

Mutations et polymorphismes des protéines de l'hémostase prédisposant à la thrombose

M. Alhenc-Gelas

Dans la maladie thromboembolique veineuse, à côté des déficits en inhibiteurs de la coagulation qui sont connus de longue date mais qui sont assez rares, deux mutations thrombogènes fréquentes (mutation Leiden du facteur V et mutation 20210 G>A du gène du facteur II) ont été découvertes en 1994 et 1996. Depuis lors, n'ont été découverts que des facteurs de risque mineurs qui n'influencent pas les attitudes thérapeutiques. Dans la maladie thrombotique artérielle, de nombreux polymorphismes qui pourraient contribuer au développement de la thrombose artérielle ont été identifiés. Dans un certain nombre de cas, des relations significatives entre génotypes et phénotypes plasmatiques ont été mises en évidence. En revanche, la contribution exacte des génotypes aux phénotypes cliniques reste bien souvent incertaine. Ces incertitudes sont en partie explicables par la complexité des processus mis en jeu et par l'importance majeure des facteurs environnementaux dans le développement de cette pathologie.

Mots clés : Thrombose ; Gène ; Coagulation ; Polymorphisme ; Inhibiteur de la coagulation ; Facteur V ; Facteur II ; Thrombophilie

Plan

■ Hémostase et thromboses (Fig. 1)

L'hémostase est un système complexe faisant appel aux plaquettes, aux cellules endothéliales vasculaires et à un réseau de protéines plasmatiques. Ce mécanisme est normalement déclenché dans le secteur extravasculaire pour colmater une blessure et arrêter une hémorragie. Initiée par la mise à disposition du facteur tissulaire (FT), la cascade d'activation enzymatique mise en jeu aboutit à la formation de thrombine qui est l'enzyme clé du système. Générée localement et à forte concentration à la surface des plaquettes activées, elle recrute d'autres plaquettes, coagule le fibrinogène et accélère sa propre formation en activant les facteurs V et VIII. Le caillot de fibrine est ensuite éliminé au cours du processus de fibrinolyse qui comporte deux étapes : la transformation du plasminogène en plasmine par l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) et la dégradation du substrat par la plasmine.

Coagulation et fibrinolyse sont étroitement régulées. La thrombine, diluée dans le flux circulatoire, est maintenue au-dessous d'un seuil critique par plusieurs mécanismes inhibiteurs, dont l'antithrombine et le système de la protéine C sont les principaux acteurs. La régulation de la fibrinolyse fait intervenir l'inhibiteur rapide et spécifique du tPA (PAI1), l'α2-antiplasmine et le *thrombin activatable fibrinolysis inhibitor* (TAFI).

Les thromboses résultent d'une activation anormale de l'hémostase au sein du système vasculaire. La défaillance des systèmes inhibiteurs de la coagulation, un excès de facteurs procoagulants, et au sein du système fibrinolytique, l'excès de PAI1 peuvent théoriquement favoriser leur survenue.

Les thromboses peuvent se développer dans les veines ou dans les artères. Dans la plupart des cas de thrombose artérielle, il existe une maladie sous-jacente de la paroi vasculaire (l'athé-

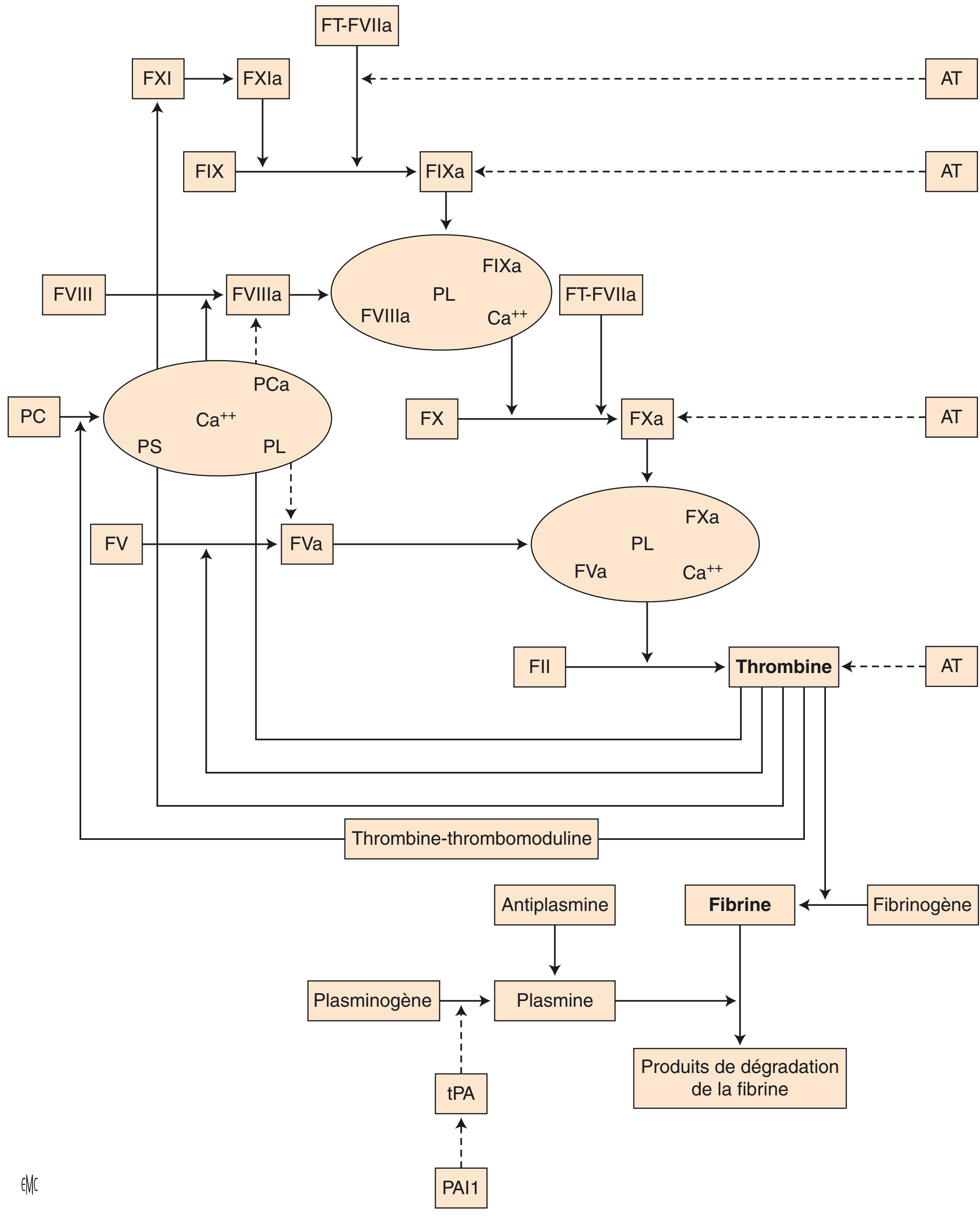


Figure 1. Schéma de la coagulation et fibrinolyse. AT : antithrombine ; PC : protéine C ; PCa : protéine C activée ; PS : protéine S ; PL : phospholipides ; FT : facteur tissulaire ; PAI-1 : *plasminogen activator inhibitor* 1 ; tPA : *tissue plasminogen activator* ; Ca^{++} : calcium : F : facteur.

rosclérose), ce qui n'est pas le cas dans la thrombose veineuse. Ceci peut expliquer pourquoi les facteurs de risque génétiques de la coagulation ont un rôle plus prononcé dans la survenue des thromboses veineuses qu'artérielles.

Les déficits héréditaires en inhibiteurs de la coagulation ont été les premières anomalies génétiques des facteurs de la coagulation associées à un risque accru de thrombose veineuse profonde récidivante (thrombophilie), pathologie initialement considérée comme monogénique. La découverte plus récente (en 1994, puis en 1996) de l'implication de deux polymorphismes fréquents (mutations Leiden du facteur V et 20210 G>A du gène de la prothrombine) a modifié cette conception [1].

Le développement des techniques de biologie moléculaire et des méthodes et logiciels d'analyse des résultats a permis d'entreprendre des travaux de grande envergure à la recherche d'autres facteurs génétiques modulateurs. À ce jour, seuls des facteurs de risque mineurs sans conséquences sur la prise en charge thérapeutique ont pu être mis en évidence.

> **Point important**
>
> Ces facteurs de risque génétiques (déficits en inhibiteurs de la coagulation et mutations thrombogènes du facteur V et du facteur II [prothrombine]) ne sont retrouvés que dans un peu plus de la moitié des familles thrombophiliques. En effet, il est maintenant bien établi que la pathologie thrombotique (aussi bien veineuse qu'artérielle) est multicausale, faisant intervenir de multiples facteurs de risque génétiques et circonstanciels.

■ Anomalies génétiques des protéines de la coagulation, facteurs de risque de thrombose établis

Déficits en inhibiteurs de la coagulation (antithrombine, protéine C, protéine S)

Protéines/gènes

L'antithrombine (AT) est une glycoprotéine plasmatique monocaténaire de masse moléculaire (MM) 58 kDa comportant 432 acides aminés (AA) et quatre chaînes latérales oligosaccharidiques. L'AT est synthétisée par le foie et sa concentration plasmatique moyenne est de 125 mg/l. Sa demi-vie plasmatique moyenne est de 65 heures. L'AT appartient à la superfamille des inhibiteurs de sérine-protéases (serpines). Elle inactive essentiellement la thrombine et le facteur X activé (a), mais également, en présence d'héparine, les facteurs VIIa, XIa et XIIa. L'inactivation de la protéase implique la formation d'une liaison irréversible entre le site actif de l'enzyme et le site réactif de l'inhibiteur, formé par l'Arg 393 et la Ser 394 (P1-P1'). L'AT joue le rôle de pseudosubstrat pour l'enzyme. En effet, le clivage de la liaison P1-P1' induit un changement de conformation important de l'AT qui peut alors former un complexe stable avec la protéase cible par incorporation des AA situés en amont de l'Arg 393 dans une structure en feuillet β constituée dans la forme non clivée de cinq brins et dans la forme clivée de six brins, le sixième étant constitué du segment P1-P14 (Fig. 2). L'inhibition de l'enzyme par l'AT est catalysée par l'héparine et les protéoglycanes de l'endothélium vasculaire. Cette interaction accélère l'inhibition de la thrombine d'un facteur d'environ 2 000. En présence d'héparine, la boucle du site réactif de l'AT est plus exposée à la surface de la protéine et s'adapte plus facilement au site catalytique de certains facteurs activés comme le facteur Xa. Dans le cas de la thrombine, qui possède comme l'AT des sites de fixation pour l'héparine, il y a formation d'un complexe ternaire qui rapproche l'enzyme de son inhibiteur. Le domaine de liaison à l'héparine de l'AT comporte la région des AA 41 à 49, d'une part, et celle des AA 107 à 156, d'autre part. Les deux régions sont riches en AA basiques qui peuvent interagir avec les groupements sulfates de l'héparine. Elles sont voisines dans la structure tertiaire de la protéine [2].

Le gène codant l'AT est situé sur le chromosome 1, comporte sept exons et s'étend sur 13 480 paires de bases (pb). Il existe dix séquences Alu dans les introns, représentant 22 % des séquences introniques, soit quatre fois plus que dans l'ensemble du génome humain. Le rôle de ces éléments répétitifs est inconnu, mais ils peuvent certainement contribuer à la survenue de mutations par délétion d'un segment du gène après recombinaison entre séquences homologues [3].

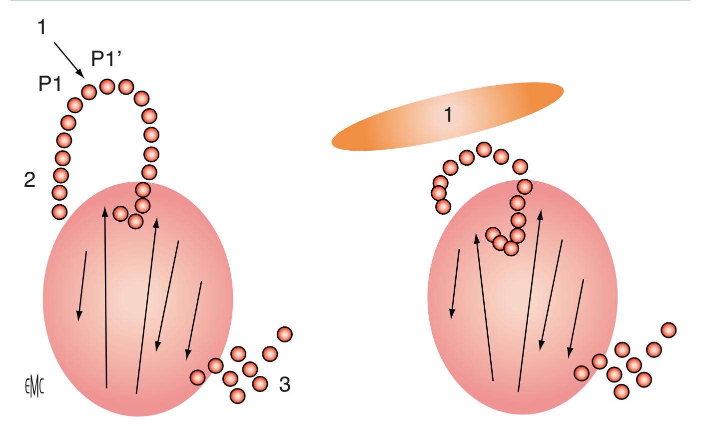


Figure 2. Schéma de la molécule d'antithrombine. 1. Thrombine ; 2. site réactif ; 3. site de liaison à l'héparine.

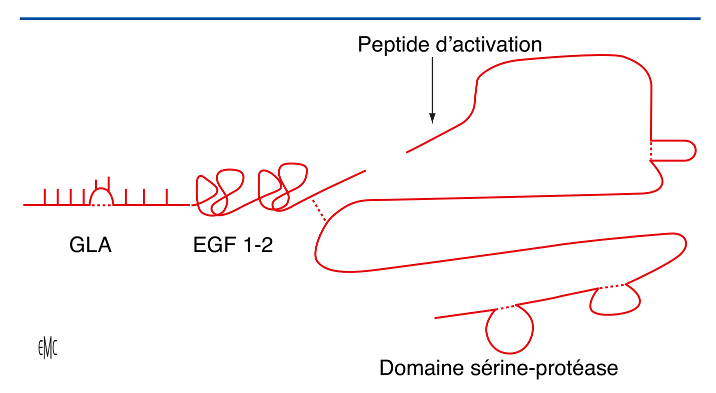


Figure 3. Schéma de la molécule de protéine C. GLA : acides γ carboxyglutamiques ; EGF : *epidermal growth factor.*

La protéine C (PC) est une glycoprotéine plasmatique de 62 kDa, vitamine K-dépendante, comportant 23 % de carbohydrates. Il s'agit du zymogène d'une sérine-protéase à propriétés anticoagulantes. La PC est synthétisée par le foie et circule dans le plasma à la concentration de 3 à 5 mg/l. Sa demi-vie est de 6 à 8 heures.

Le gène de la PC, situé sur le chromosome 2, s'étend sur 11,6 kb et comprend neuf exons [4]. Chacune des régions codantes correspond à un domaine fonctionnel, sauf l'exon I qui n'est pas traduit. Deux polymorphismes de la région promotrice du gène qui influent sur le taux de PC ont été identifiés (-1654 C>T, -1641 A>G). Le génotype CC/GG, associé aux taux de PC les plus bas, est facteur de risque de thrombose [5].

La PC est synthétisée sous forme d'un polypeptide monocaténaire de 461 AA comportant un peptide leader, un site de reconnaissance de la γ-carboxylase vitamine K-dépendante, une chaîne lourde et une chaîne légère. La PC mature, sous forme bicaténaire, résulte des clivages protéolytiques intracellulaires qui induisent la perte du prépropeptide et le clivage de la forme monocaténaire. La chaîne légère comporte un domaine (résidus 1 à 45) contenant neuf acides γ-carboxyglutamiques (GLA) et deux domaines (résidus 46 à 91 et 92 à 136) analogues à l'*epidermal growth factor* (EGF). La chaîne lourde comporte le domaine sérine-protéase (185-419) et un peptide d'activation N-terminal lié au domaine catalytique. Le site catalytique est constitué de trois AA : His 211, Asp 257 et Ser 360. Le domaine GLA permet la fixation d'ions calcium et la formation du complexe enzymatique à la surface de phospholipides anioniques (Fig. 3).

In vivo, un complexe formé par la thrombine et son récepteur endothélial, la thrombomoduline, convertit la PC inactive en PC activée (PCa) capable de dégrader les facteurs Va et VIIIa. L'activation résulte du clivage de la liaison Arg 169-Leu 170 et de la libération du dodécapeptide N-terminal de la chaîne lourde qui démasque la poche catalytique [6].

La protéine S (PS) [7] est le principal cofacteur de la PC. C'est une glycoprotéine monocaténaire vitamine K-dépendante, de 69 kDa, comprenant 7 % de carbohydrates. Sa concentration plasmatique est de 20 à 25 mg/l et sa demi-vie de 42 heures. La PS est produite par le foie, mais elle a également été localisée dans la cellule endothéliale, le mégacaryocyte et la cellule de Leydig. Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur de 676 AA comprenant une séquence leader éliminée avant la sécrétion, un peptide signal hydrophobe et un propeptide comportant le site de reconnaissance de la carboxylase analogue à celui des autres facteurs vitamine K-dépendants. La forme mature de la PS (635 AA) consiste en un domaine GLA comportant 11 résidus GLA, un peptide de liaison, une boucle sensible à la thrombine (BST), quatre domaines EGF et une région carboxyterminale présentant des zones d'homologie par rapport à la *sex hormone-binding globuline* (SHBG) (Fig. 4).

La PS augmente l'affinité de la PCa pour les phospholipides chargés négativement, formant un complexe PCa-PS lié à la membrane qui rend les facteurs Va et VIIIa plus accessibles au clivage par la PCa. La PS circule dans le plasma pour partie sous

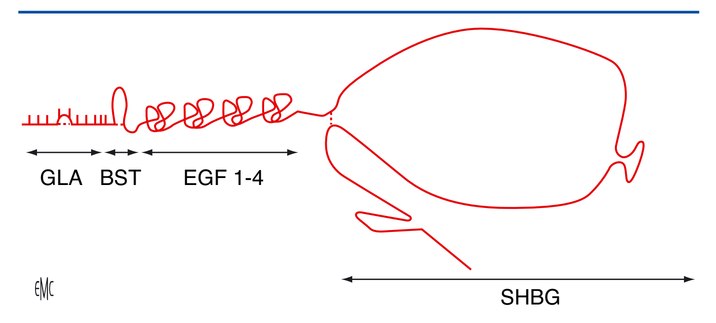


Figure 4. Schéma de la molécule de protéine S. GLA : acides γ carboxyglutamiques ; BST : boucle sensible à la thrombine ; EGF : *epidermal growth factor* ; SHBG : *sex hormone-binding globuline*.

forme libre (40 % de la PS circulante) active dans le système de la coagulation, pour partie (60 %) sous forme complexée à la C4b-*binding protein* (C4bBP), protéine du système du complément qui lie la PS au niveau du domaine SHBG. La PS liée à la C4bBP n'a pas d'effet cofacteur de la PCa.

D'autres mécanismes d'action indépendants de la PC ont été évoqués mais leur importance physiologique n'est pas fermement établie ; en particulier, la PS pourrait avoir une activité anticoagulante directe grâce à ses capacités de liaison et d'inhibition des facteurs Xa, Va et VIIIa et de compétition par rapport aux facteurs procoagulants pour la liaison aux phospholipides. Elle pourrait aussi stimuler l'inhibition de la voie du facteur tissulaire par le *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI).

Le gène codant la PS a été localisé sur le chromosome 3. Il existe deux gènes présentant 98 % d'homologie : un gène actif α comportant 15 exons s'étendant sur plus de 80 kb et un pseudogène β non codant, très proche du gène α [8].

Des travaux récents montrent que PC et PS sont non seulement des partenaires du système anticoagulant, mais aussi des protéines étroitement impliquées dans les mécanismes de l'inflammation, de l'apoptose et dans les phénomènes qui conditionnent la perméabilité vasculaire [9].

Déficits héréditaires

Fréquence et phénotypes intermédiaires

Les déficits constitutionnels en AT, PC et PS se manifestant par des thromboses veineuses chez l'adulte se transmettent habituellement sur le mode autosomique dominant. Leur pénétrance est variable.

Le déficit en AT est retrouvé chez 1 % à 2 % des patients atteints de maladie thromboembolique veineuse primitive. La prévalence du déficit en AT symptomatique dans la population générale est comprise entre 1/2 000 et 1/5 000 [10].

Le déficit en PC est retrouvé chez 3 % des patients atteints de maladie thromboembolique veineuse primitive. Les modes de transmission du déficit en PC apparaissent cependant complexes. En effet, il ressort d'études de cohortes de patients thrombophiliques que la prévalence du déficit en PC associé à des thromboses est comprise entre 1/16 000 et 1/36 000 [11]. Une prévalence beaucoup plus forte de déficits en PC asymptomatiques a été mise en évidence dans une population saine de donneurs de sang (1/200 à 1/700) [12]. Une forme très sévère du déficit peut refléter un état homozygote.

Le déficit en PS est retrouvé chez 2 % à 3 % des patients thrombophiliques. La prévalence dans la population générale pourrait être de l'ordre de 0,05 % à 0,1 % [13].

Les déficits héréditaires en AT et PC peuvent être quantitatifs (type I) ou qualitatifs (type II) (Tableau 1). Un défaut de sécrétion de la protéine, objectivé par le déficit en antigène, est à l'origine du déficit de type I. Dans les déficits de type II, la protéine est sécrétée normalement, mais présente une anomalie fonctionnelle. Les déficits en AT de type II peuvent être divisés en trois groupes. Dans les déficits de type IIRS (*reactive site*), l'anomalie porte sur le site actif. Dans les déficits de type IIHBS (*heparin binding site*), le site actif est normal, mais le site de liaison à l'héparine est modifié. Dans les déficits de type IIPE (à effet pléiotropique), la capacité de liaison de l'AT à l'héparine et sa capacité d'inhibition des protéases sont toutes deux affectées, ainsi qu'à un degré moindre la sécrétion de la protéine. On distingue les déficits en PC de type IIAM (activité amidolytique) et de type IIAC (activité anticoagulante). Dans les déficits de type IIAM, l'activité enzymatique est diminuée. Dans les déficits de type IIAC, l'activité anticoagulante de la protéine est diminuée bien que le site catalytique soit intact. Ces déficits affectent l'un des sites d'interaction de la PC et des autres partenaires du système.

En ce qui concerne la PS, il existe de plus des déficits de type III caractérisés par une PS libre basse contrastant avec une PS totale normale. Les déficits de type I et III seraient en fait l'expression d'un même génotype [14].

Bases moléculaires

L'anomalie moléculaire responsable du déficit en AT a été identifiée dans de nombreux cas et un ensemble de mutations décrites a été regroupé dans une base de données [15]. Il existe également des bases de données accessibles sur Internet (www.hgmd.cf.ac.uk et www.imperial.ac.uk). Les grandes délétions du gène sont relativement rares. La plupart des mutations retrouvées dans les déficits de type I sont des mutations ponctuelles, des insertions ou des délétions de petite taille (1 à 30 nucléotides) qui peuvent altérer le processing de l'acide ribonucléique messager (ARNm), induire un arrêt prématuré de la synthèse ou la production d'une protéine instable ou non sécrétée. Les déficits de type II sont le plus souvent la conséquence

Tableau 1.
Les différents types de déficits constitutionnels en antithrombine, protéine C et protéine S.

Antithrombine	**Type I**	**Type II**		
		RS	*HBS*	*PE*
Activité cofacteur de l'héparine (%)	≤ 80	≤ 80	≤ 80	70-90
Antithrombine progressive (%)	≤ 80	≤ 80	80-120	70-90
Antigène (%)	≤ 80	80-120	80-120	70-90
Protéine C	**Type I**	**Type II**		
		AC	*AM*	
Antigène (%)	< 70	70-130	70-130	
Activité amidolytique (%)	< 70	70-130	< 70	
Activité anticoagulante (%)	< 70	< 70	< 70	
Protéine S	**Type I**	**Type II**	**Type III**	
Protéine S totale (%)	Diminué	Normal	Normal	
Protéine S libre (%)	Diminué	Normal	Diminué	
Activité anticoagulante (%)	Diminué	Diminué	Diminué	

RS : *reactive site* ; HBS : *heparin binding site* ; PE : *pleiotropic effect* ; AC : activité anticoagulante ; AM : activité amidolytique.

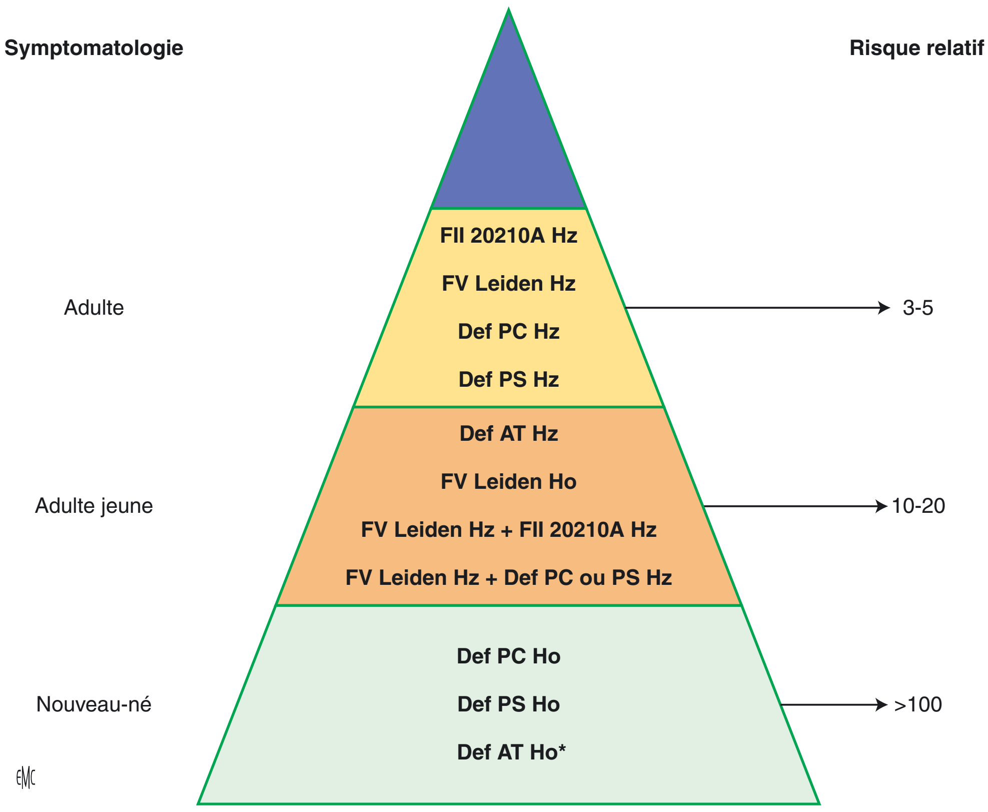


Figure 5. Risque thrombotique en fonction du génotype. Hz : hétérozygote ; Ho : homozygote : F : facteur ; PC : protéine C ; PS : protéine S ; Def : déficit ; AT : antithrombine. *Létal sauf type II HBS, rares variants conformationnels.

de mutations ponctuelles qui entraînent la substitution d'un AA responsable du dysfonctionnement de la protéine. Les mutations qui génèrent des déficits de type IIRS affectent les AA 392, 393, 394, 382 et 384 du site actif. La plupart des mutations responsables de déficits de type IIHBS sont des mutations faux-sens qui affectent les résidus Arg 47 et Arg 129 chargés positivement. Leur remplacement par un AA non chargé peut diminuer les interactions ioniques nécessaires à la catalyse de l'inhibition AT-protéase par l'héparine. Les mutants à effet PE sont souvent porteurs de substitutions des résidus 402 à 407 situés dans la région P9'-P14' de l'AT. Le défaut d'inhibition de la thrombine mis en évidence pourrait être la conséquence d'une anomalie de l'insertion du segment au sein de la molécule d'AT. L'anomalie de l'affinité de l'AT pour l'héparine pourrait démontrer l'existence d'un lien conformationnel entre le site de liaison à l'héparine et le site actif. Dans ces déficits de type PE, des traces de protéine anormale peuvent être mises en évidence dans le plasma.

En ce qui concerne les déficits en PC, une base de données publiée rapporte un ensemble de mutations identifiées [16]. Une autre base de données est accessible sur Internet (www.hgmd.cf.ac.uk). Les mutations retrouvées dans les déficits de type I sont la plupart du temps des mutations ponctuelles faux-sens. Les délétions et les insertions ne surviennent que dans 10 % des cas. Un tiers des mutations ponctuelles surviennent au niveau des nucléotides CpG qui sont des points chauds de mutation. La plupart des mutations entraînent un arrêt prématuré de la synthèse ou une modification de la conformation protéique induisant une perte de stabilité. Dans les déficits de type II, qui sont plus rares (10 % des déficits rapportés), des mutations faux-sens sont retrouvées principalement au niveau du domaine GLA et du domaine catalytique, dans la séquence du prépropeptide et au niveau du site de clivage par la thrombine.

Les mutations décrites dans les déficits en PS ont également fait l'objet de bases de données ([17] et www.hgmd.cf.ac.uk). Dans plus de la moitié des cas, il s'agit de mutations faux-sens. On observe également des micro-insertions ou délétions et quelques codons-stop. Quelques grandes délétions ont été mises en évidence. Les mutations ponctuelles entraînant un arrêt prématuré de la synthèse ou une modification de la conformation protéique sont cependant plus fréquentes que les délétions. Quelques substitutions d'AA survenant au site de clivage du propeptide ou dans les domaines EGF génèrent des déficits qualitatifs.

Manifestations cliniques

Déficits hétérozygotes

Les déficits héréditaires en AT, PC et PS induisent une maladie thromboembolique essentiellement veineuse (Fig. 5) [18].

> **“ Point important**
>
> Le risque relatif (RR) de thrombose veineuse associé à la présence d'un déficit à l'état hétérozygote est, d'après les données de la littérature, de l'ordre de 10 à 20 pour l'AT, de 5 pour la PC ou la PS.

Certaines mutations des gènes de l'AT ou de la PC responsables de déficits de type I sont pathogènes bien que n'étant pas associées à des déficits francs. Pour la PS, la situation est différente. En effet, d'après Lijfering et al., seuls les déficits en PS libre « francs » (PS libre < 40 %) sont facteurs de risque [19].

Près de 90 % des épisodes thrombotiques sont des thromboses veineuses profondes des membres inférieurs avec ou sans embolie pulmonaire. Les thromboses veineuses survenant dans des sites inhabituels telles que les thromboses veineuses mésentériques ou les thromboses cérébrales sont rares (moins de 5 % des accidents). Les thromboses veineuses superficielles sont plus fréquentes chez les patients porteurs d'un déficit en PC ou en PS que chez les déficients en AT.

La maladie thromboembolique se développe chez 50 % environ des patients déficitaires en AT, PC et PS. Le premier

accident survient le plus souvent entre 15 et 45 ans. Des récidives de thrombose sont observées dans la moitié des cas. Le déficit en AT est un facteur de risque thrombotique plus fort que le déficit en PC ou en PS. La moitié des accidents thrombotiques se produisent dans des situations à risque de thrombose (chirurgie, grossesse, alitement prolongé). La fréquence des thromboses survenant pendant la grossesse ou le post-partum est de l'ordre de 40 % chez les déficitaires en AT, de 15 % chez les déficitaires en PC ou en PS [20]. La présence d'autres facteurs de risque thrombotique acquis (contraceptifs oraux estroprogestatifs, par exemple) ou constitutionnels augmente le risque [21, 22].

> *Point important*
>
> Les risques thrombotiques associés aux déficits qualitatifs ou quantitatifs sont généralement similaires, à l'exception du risque associé au déficit en AT de type IIHBS qui, lorsque le déficit est modéré (hétérozygotie), est faible, voire nul [22].

Les déficits en PS pourraient engendrer un risque accru de fausses couches spontanées [23].

Déficits homozygotes

Le déficit homozygote en AT de type I ou de type IIRS est probablement incompatible avec la vie. L'expression clinique du déficit homozygote en AT de type IIHBS est précoce. Il s'agit d'une maladie thromboembolique sévère, parfois avec manifestations artérielles. Un cas d'homozygotie pour un variant instable a été rapporté.

La fréquence du déficit homozygote ou hétérozygote composite en PC a été estimée à 1/60 000-1/360 000. En l'absence de PC active circulante, des manifestations cliniques gravissimes de type purpura fulminans peuvent survenir dès la naissance ou dans la première année de la vie. En présence de concentrations en PC de 5 % à 25 %, les manifestations cliniques se rapprochent de celles qui sont observées chez les hétérozygotes. La prévalence des thromboses survenant chez les hétérozygotes apparentés à un patient atteint de déficit homozygote est faible (5 % contre 50 % dans les familles de déficitaires sans homozygotie), suggérant une transmission récessive. Le déficit homozygote en PS a été beaucoup plus rarement rapporté. Il peut entraîner des manifestations cliniques gravissimes similaires à celles qui sont induites par le déficit homozygote en PC [15-17].

Diagnostic biologique

Le diagnostic de déficit en AT, PC ou PS utilise en première intention les techniques de dosage de la protéine circulante. Le caractère constitutionnel de l'anomalie ne peut être affirmé qu'après contrôle de la permanence du déficit, vérification de l'absence de toute cause de déficit acquis et enquête familiale. L'analyse du gène est le plus souvent inutile en ce qui concerne le diagnostic de déficit en AT. Les informations apportées par l'analyse du gène de la PC et de la PS conduisent à envisager une application diagnostique de la biologie moléculaire dans un certain nombre de cas.

Déficit en antithrombine

L'utilisation conjointe de méthodes mesurant l'activité de la protéine en présence et en l'absence d'héparine et d'une méthode immunologique permet de faire le diagnostic et de typer le déficit.

Lorsque l'activité cofacteur de l'héparine est abaissée (inférieure à 80 %) et après confirmation de la permanence du déficit, il est impératif de réaliser un dosage par méthode immunologique. Ce dosage permet de confirmer un déficit de type I si la concentration est inférieure à 80 % ou de suspecter un déficit de type II s'il existe une divergence avec l'activité cofacteur de l'héparine. Dans ce cas, la mesure de l'activité antithrombine ou antifacteur Xa en l'absence d'héparine (activité progressive) permet de différencier les types IIHBS et IIRS. Les déficits de type IIPE sont caractérisés par des concentrations d'AT peu diminuées et une différence modeste entre la concentration immunologique et l'activité cofacteur de l'héparine. La présence de traces de protéine non fonctionnelle n'est révélée que par des techniques électrophorétiques.



> *Point important*
>
> Le dépistage s'effectue par la mesure de l'activité cofacteur de l'héparine qui, lorsqu'elle est réalisée dans de bonnes conditions analytiques, est sensible à l'ensemble des anomalies.

Les traitements par héparine non fractionnée de type curatif diminuent la concentration plasmatique d'AT de 10 % à 20 %. Une normalisation des taux est obtenue en 5 jours environ après l'arrêt du traitement. Des déficits acquis en AT sont observés en cas d'insuffisance hépatique, dans les syndromes de consommation et au cours du syndrome néphrotique.



> *Point important*
>
> Le typage d'un déficit constitutionnel en AT est impératif car il a des conséquences thérapeutiques.

En effet, contrairement aux autres déficits, comme on l'a vu plus haut, le déficit hétérozygote de type IIHBS est peu, voire non thrombogène.

L'analyse du gène n'est justifiée que dans des situations particulières où le typage plasmatique et l'enquête familiale ne permettent pas de conclure.

Déficit en protéine C

Le diagnostic biologique de déficit en PC est rendu difficile par la variété des anomalies moléculaires responsables du défaut d'expression de l'allèle muté.

Ainsi, des concentrations de PC comprises entre 60 % et 90 % sont observées aussi bien chez des sujets normaux que chez des sujets hétérozygotes.

Aucune technique commercialisée ne permet de dépister tous les types de déficit en PC, car aucune d'entre elles (pour des raisons de praticabilité) n'utilise l'activateur physiologique de la PC, le complexe thrombine-thrombomoduline.



> *Point important*
>
> La technique de dépistage la plus pertinente est celle qui mesure l'activité anticoagulante de la PC après activation par une enzyme extraite d'un venin de serpent, le Protac®. En effet, c'est la seule méthode sensible à tous les types du déficit.

Lorsque l'activité anticoagulante est diminuée (inférieure à 70 %), le typage nécessite la réalisation d'un dosage immunologique par une technique Elisa (*enzyme-linked immunosorbent assay*, méthode immunoenzymatique). La méthode amidolytique qui évalue l'activité enzymatique de la protéine permet de différencier les déficits qualitatifs de type IIAM et IIAC.

Des déficits acquis en PC sont observés lors des carences en vitamine K, en cas d'insuffisance hépatique et dans les syndromes de consommation.

> **Point important**
>
> À ce jour, le typage du déficit en PC n'a pas de conséquence sur le plan thérapeutique.

L'analyse du gène de la PC n'est totalement justifiée que dans le contexte d'homozygotie ou d'hétérozygotie composite avec complications thrombotiques sévères à la naissance, pour permettre un diagnostic anténatal en cas de nouvelle grossesse dans la famille. Elle peut, de plus, être intéressante dans quelques cas particuliers (identification d'hétérozygoties lorsque la concentration plasmatique de la PC est comprise entre 60 % et 90 %, résolution de phénotypes familiaux complexes, etc.).

Déficit en protéine S

> **Point important**
>
> La technique de dépistage la plus pertinente est celle qui mesure l'activité cofacteur de la PCa, seule apte à détecter les anomalies qualitatives.

Elle est le plus souvent mesurée à l'aide d'un test de coagulation globale qui étudie l'effet anticoagulant exercé par le plasma du malade en présence de PCa sur un plasma déplété en PS enrichi en facteur Va bovin. La concentration immunologique de la PS totale et de la PS libre est évaluée par dosage immunoenzymatique ou immunoturbidimétrique. L'utilisation conjointe des trois méthodes permet le typage des déficits.

> **Point important**
>
> À ce jour, le typage des déficits en PS n'a pas de conséquence sur le plan thérapeutique.
> Les valeurs usuelles de la PS diffèrent en fonction du sexe et de l'âge, avec une limite inférieure un peu plus basse (d'environ 10 %) chez les femmes jeunes que chez les hommes ou les femmes ménopausées.

Des déficits acquis en PS peuvent être observés en cas de carence en vitamine K, d'insuffisance hépatocellulaire, de syndrome de consommation, lorsqu'un anticorps anti-PS est présent et au cours de certains traitements estroprogestatifs. La PS diminue précocement au cours de la grossesse (début du deuxième trimestre).

Comme pour la PC, l'analyse du gène de la PS est réservée au contexte d'homozygotie associée à des manifestations thrombotiques et à quelques contextes particuliers.

Le diagnostic de déficit en PC ou en PS par dosage plasmatique ne peut se faire qu'en dehors de tout traitement par antivitamine K, au besoin lors d'une fenêtre thérapeutique, après passage à l'héparine ou à un dérivé de bas poids moléculaire (héparine de bas poids moléculaire [HBPM]) pendant le mois qui précède l'examen.

Attitudes thérapeutiques

Déficit hétérozygote

Le traitement curatif classique de la maladie thromboembolique veineuse par HBPM ou par héparine non fractionnée, puis par antivitamine K, est généralement efficace chez les patients porteurs d'un déficit constitutionnel en l'un des inhibiteurs de la coagulation thrombogène [18]. Les patients déficitaires en AT peuvent présenter une relative résistance à l'héparine qui oblige à utiliser des posologies plus fortes pour obtenir une anticoagulation satisfaisante. L'administration de concentrés d'AT est très rarement nécessaire. La durée du traitement anticoagulant oral est discutée en fonction de l'histoire thrombotique personnelle et familiale. Chez les sujets déficitaires n'ayant pas d'antécédent de thrombose, il n'est pas prescrit de traitement anticoagulant préventif permanent. En revanche, une prévention, le plus souvent par HBPM, est instaurée dans toute situation à risque (intervention chirurgicale, alitement prolongé, grossesse ou post-partum). Le port d'une contention élastique est également indiqué dans certains cas. Le risque thrombotique apparaît élevé pendant toute la grossesse et le post-partum chez les déficitaires en AT, et le recours aux concentrés d'AT est parfois nécessaire pendant l'accouchement. Chez les déficitaires en PS, le risque serait plus important en post-partum que pendant la grossesse. Des recommandations qui concernent la prise en charge des patientes thrombophiliques au cours de la grossesse ont été publiées à la suite d'une conférence de consensus qui s'est tenue en 2003. Elles peuvent être consultées sur le site de la Haute Autorité de santé (www.has-sante.fr). Les médicaments estro-progestatifs sont totalement contre-indiqués chez les femmes déficitaires. Ceci n'est pas le cas de certains progestatifs purs. Un traitement anticoagulant oral ne doit jamais être débuté d'emblée sans couverture héparinique chez un patient porteur d'un déficit en PC. En effet, la chute rapide de la PC déclenchée par la prise d'antivitamine K induit un déséquilibre de la balance hémostatique qui a été rendu responsable de la survenue de nécroses cutanées.

Déficit homozygote

Chez les enfants porteurs d'un déficit homozygote en PC présentant un purpura fulminans à la naissance, l'administration de concentré de PC est une thérapeutique efficace. Ces concentrés sont également utilisés lors du relais héparine-antivitamine K chez les déficitaires adultes ayant des antécédents de nécrose cutanée.

Facteur V Leiden

Protéine et mutation

Le facteur V est une glycoprotéine de 300 kDa, codée par un gène localisé sur le chromosome 1 comportant 25 exons. Le facteur V comporte plusieurs domaines A1A2BA3C1C3. Le domaine B est éliminé après clivage du facteur V par la thrombine et le facteur Va ainsi formé est un cofacteur du facteur Xa qui active la prothrombine en thrombine. Le facteur Va est physiologiquement dégradé par protéolyse limitée par la PCa qui clive les liaisons en position 306 et 506 de la chaîne lourde.

L'addition de PCa purifiée à un plasma normal induit un allongement du temps de céphaline plus activateur (TCA) qui reflète la dégradation accrue des facteurs Va et VIIIa par la PCa. La première observation d'un défaut d'allongement du TCA du plasma supplémenté en PCa, donc d'une diminution de l'effet anticoagulant de la PCa chez des patients atteints de thrombophilie familiale, a été faite par Dahlbäck et al. en 1993. Cette résistance plasmatique à la PCa (RPCA) est un facteur de risque de thrombose très fréquemment retrouvé dans les populations d'origine européenne.

Dans la plupart des cas, la RPCA est la conséquence de la présence d'un facteur V anormal (facteur V Leiden) comportant en position 506 une glutamine à la place d'une arginine. La substitution d'AA résulte d'une mutation ponctuelle du gène induisant le remplacement de la guanine en position 1691 par une adénine. Cette mutation modifie l'un des sites de clivage du facteur Va par la PCa. Plusieurs groupes ont étudié les

cinétiques d'inactivation du facteur Va. Pour l'un d'entre eux, le clivage initial survient en 506 et favorise le clivage en 306. Ce deuxième clivage est fondamental pour l'inactivation de la protéine. Pour un autre, le clivage se produit sur les deux sites simultanément, mais est plus lent en 306. Le clivage en 506 constitue pour cette équipe le mécanisme principal d'inactivation. Ainsi, la mutation Leiden du facteur V réduit la vitesse de dégradation du facteur Va (par réduction du clivage en 506 ou par défaut d'accélération du clivage en 306). Elle pourrait, de plus, modifier une autre fonction du facteur V, son effet cofacteur de la PCa et de la PS vis-à-vis de la dégradation du facteur VIIIa. La mutation n'entraîne, en revanche, aucune modification des fonctions procoagulantes du facteur V.

Les bases moléculaires de la RPCA constitutionnelle apparaissent beaucoup plus simples que celles des déficits en inhibiteurs de la coagulation puisque la plupart des patients qui ont une RPCA anormale sont porteurs du facteur V Leiden [24].

L'influence d'autres polymorphismes du gène du facteur V sur la RPCA a été recherchée. Il existe deux allèles fréquents appelés HR1 et HR2 définis par cinq polymorphismes de restriction dans l'exon 13 et une variation de séquence dans l'exon 16. La fréquence de l'allèle HR2 est de l'ordre de 10 % dans la population générale. La mutation Leiden du facteur V affecte toujours l'allèle HR1. Il avait été initalement suggéré que l'allèle HR2 codait pour un facteur V moins sensible à l'action de la PCa et que l'association de l'allèle HR1 portant la mutation Leiden avec l'allèle HR2 pouvait renforcer le phénotype de RPCA. Ultérieurement, plusieurs études ont apporté des résultats contradictoires. Dans une méta-analyse de huit études cas-contrôle (2 686 cas, 7 710 contrôles) publiée en 2003, la présence de l'allèle HR2 engendrait un risque relatif (RR) non significatif de thrombose veineuse de 1,15 et la présence simultanée du facteur V Leiden et de l'allèle HR2 ne renforçait pas l'effet [25]. Les études les plus récentes ne clarifient pas la situation ; en effet, une méta-analyse de 2009 (120 000 cas, 180 000 contrôles) rapporte un RR significatif de 1,24 [26], alors que dans une cohorte d'environ 5 000 sujets âgés de plus de 65 ans avec suivi prospectif, cet allèle n'a pas d'effet [27].

Risque thromboembolique veineux associé à la présence du facteur V Leiden/RPCA (Fig. 5)

Les données épidémiologiques ont établi sans ambiguïté l'implication du facteur V Leiden et de la RPCA dans la maladie thromboembolique veineuse. Cette relation a été tout d'abord mise en évidence dans la Leiden Thrombophilia Study (LETS), une grande étude cas-témoin hollandaise comportant 474 sujets ayant présenté une première thrombose veineuse et 474 témoins appariés sur l'âge et le sexe [28] (RR significatif de 2,7), puis dans de nombreuses autres études.

La mutation, qui résulte d'un effet fondateur, est observée dans les populations normales avec une fréquence variable en fonction de la localisation géographique (gradient Nord-Sud, fréquence moyenne 5 %) [14].

> *Point important*
>
> Le facteur V Leiden augmente le risque de développer une thrombose veineuse profonde d'un facteur 3 à 5 lorsque la mutation est présente à l'état hétérozygote [29].

Ce facteur de risque ne s'exprime en fait, le plus souvent, que dans des situations à risque de thrombose (contraception orale, grossesse, etc.) ou chez des patients atteints d'autres facteurs biologiques de risque génétique (déficit en PC, PS, mutation 20210 G>A du facteur II) ou acquis.

Par exemple, le risque relatif de thrombose veineuse profonde chez les femmes ayant une contraception estroprogestative est multiplié par 4 par rapport à une population contrôle sans contraception, alors qu'il est multiplié par 30 chez celles qui sont hétérozygotes pour le facteur V Leiden et qui ont un traitement estroprogestatif. Néanmoins, si en termes de risque relatif, cette augmentation est importante, en termes de risque absolu, on passe d'un risque de 2,2 à 27,7 pour 10 000 femmes-année, ce qui est faible [30].

Compte tenu de la forte prévalence de l'anomalie dans la population générale, de nombreux patients sont susceptibles d'être porteurs de l'anomalie à l'état homozygote (0,06 % à 0,25 %) ; le risque relatif de thrombose est alors plus important. Cependant, l'expression clinique du déficit chez ces homozygotes est considérablement moins sévère que celle observée chez les patients porteurs d'un déficit homozygote en PC ou en PS.

> *Point important*
>
> Certains sujets porteurs du facteur V Leiden à l'état homozygote peuvent rester totalement asymptomatiques.

Le facteur V Leiden n'est pas associé uniquement à la thrombose veineuse profonde des membres inférieurs. Il est également facteur de risque de thromboses veineuses superficielles [31] et de thromboses veineuses cérébrales [32]. Il est associé à la survenue d'accidents obstétricaux [33] et plus particulièrement à la survenue de fausses couches à répétition. En revanche, il n'est pas associé à la survenue d'embolie pulmonaire isolée [34]. Cette singularité pourrait être expliquée par l'influence du facteur V Leiden sur la structure du caillot.

L'association du facteur V Leiden à la récidive de thrombose a fait l'objet de plusieurs études, avec des résultats contradictoires : des méta-analyses font état d'une association significative faible (RR de l'ordre de 1,5 pour l'hétérozygotie et de 2,6 pour l'homozygotie) [35-37]. Dans l'étude de Segal et al. qui reprend les données disponibles dans une trentaine de publications, le risque d'événement thrombotique veineux est modérément augmenté chez les porteurs asymptomatiques de la mutation issus de familles thrombophiliques (RR 3,5 chez les hétérozygotes) [37].

Risque thrombotique artériel

De nombreuses équipes ont étudié le rôle du facteur V Leiden dans la survenue d'infarctus du myocarde. Initialement, dans l'étude prospective des médecins américains (Physician Health Study, PHS) [38], la présence de la mutation n'était pas associée à la survenue d'un infarctus du myocarde (IDM) ou d'un accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique. Dans le cadre de l'étude ECTIM (étude cas-contrôles de l'infarctus du myocarde) regroupant 643 patients et 726 contrôles, aucune association significative n'était relevée [39]. Quelques études avaient rapporté, cependant, des associations positives, particulièrement lorsque l'effet conjoint de la mutation et d'un facteur de risque environnemental (l'usage du tabac, par exemple) était étudié. Les résultats de deux méta-analyses récentes sont contradictoires : les résultats de Ye et al. [40] sont en faveur de l'implication de cette mutation dans la pathologie coronaire (RR 1,17 sur des effectifs de 15 704 cas et 26 686 contrôles) ; en revanche, dans l'étude de Kim et al. (25 503 sujets), l'association (RR 1,2) n'est pas significative [41].

Dans la méta-analyse de Casas et al. (4 598 malades, 13 798 contrôles), le facteur V Leiden est modestement mais significativement associé à la survenue d'accident vasculaire cérébral ischémique (RR 1,44) [42].

Diagnostic biologique

Le diagnostic de RPCA est réalisé à l'aide de techniques de dosage plasmatique. La recherche de la mutation Arg 506 Gln du facteur V fait appel aux techniques de biologie moléculaire [43].

Mesures plasmatiques de la RPCA

Il s'agit essentiellement de techniques coagulométriques. Les premiers tests mesuraient le degré d'allongement du TCA du plasma du patient en présence de PCa. Ces tests n'étaient pas spécifiques de la RPCA facteur V Leiden-dépendante, un allongement du TCA (déficit en facteur, traitement anticoagulant) ou la présence d'un anticoagulant circulant de type lupus pouvant masquer l'anomalie. Pour pallier certains de ces inconvénients, des techniques de deuxième génération ont été développées. Elles sont le plus souvent effectuées sur des mélanges de plasma du patient et de plasma normal déplété en facteur V. Dans certains d'entre eux, la coagulation est déclenchée en aval de la tenase, ou dans un système de protéines purifiées. Elles peuvent être utilisées en cas de déficit en facteurs et chez les patients traités par antivitamine K. Même si les tests sont effectués dans des conditions de bonne standardisation sur des échantillons correctement déplaquettés, leur spécificité et leur sensibilité vis-à-vis de la mutation ne peuvent pas être totales.

Recherche de la mutation p.Arg 506 Gln

Les techniques de biologie moléculaire développées sont nombreuses. Les techniques de première génération comportaient plusieurs étapes : la première étape était une amplification réalisée sur sang total ou ADN purifié de la région du gène du facteur V (exon 10) contenant le site de la mutation à l'aide d'amorces classiques ou modifiées, soit pour introduire un site de restriction lorsque l'allèle muté est amplifié, soit pour générer une amplification spécifique de l'allèle normal ou de l'allèle muté (technique ARMS). L'étude de la migration électrophorétique des fragments amplifiés natifs ou après digestion par enzyme de restriction aboutissait au diagnostic. Dans certains cas, la révélation se faisait par hybridation, les sondes utilisées pouvant être radioactives ou froides. Plus récemment, d'autres méthodologies, et en particulier des techniques de type *polymerase chain reaction* (PCR) en temps réel, ont été développées. La sensibilité et la spécificité des techniques de biologie moléculaire sont quasiment totales. Elles permettent donc d'établir un diagnostic de certitude et de déterminer d'emblée le statut génétique du patient (hétérozygote ou homozygote).

Attitude thérapeutique

La mutation Arg 506 Gln du facteur V ne s'exprime, le plus souvent, que dans des situations à risque de thrombose ou chez des patients porteurs d'autres facteurs génétiques de risque. Chez les hétérozygotes asymptomatiques, en l'absence d'autre facteur de risque de thrombose, une prophylaxie est proposée dans les situations thrombogènes telles que la chirurgie majeure. La contraception estroprogestative n'est pas contre-indiquée formellement. Pour les hétérozygotes symptomatiques, le faible risque de récidive associé à la présence de la mutation et l'absence de relation vis-à-vis de la survenue d'embolie pulmonaire ne sont pas en faveur de l'instauration d'une thérapeutique anticoagulante au long cours. Lors d'un premier épisode de thrombose, les hétérozygotes sont traités de la même façon que les sujets porteurs d'un déficit en AT, PC ou PS. Chez les homozygotes et les hétérozygotes porteurs d'une seconde anomalie génétique, asymptomatiques, une prophylaxie est instaurée dans toutes les situations à risque.

Des recommandations pour la prévention des thromboses en situation obstétricale et chirurgicale ont été rédigées sous l'égide de la Société française d'anesthésie et de réanimation (SFAR). Elles peuvent être consultées sur le site internet de la SFAR (www.sfar.org). De plus, des recommandations de bonne pratique pour la prévention des thromboses en situation médicale sont disponibles sur le site de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS) (www.afssaps.fr).

Mutation 20210 G>A du gène de la prothrombine

Découverte. Risque thrombotique veineux

La prothrombine est une protéine de 72 kDa qui, après clivage par le facteur Xa au sein du complexe prothrombinase, est transformée en thrombine, enzyme clé de l'hémostase aux multiples facettes fonctionnelles. En effet, la thrombine est :

- un activateur plaquettaire puissant ;
- un partenaire essentiel du système procoagulant car elle gère la transformation du fibrinogène en fibrine ;
- et un partenaire essentiel du système PC/PS (complexée à la thrombomoduline, elle transforme la PC en PCa).

En 1996, le groupe de Bertina a identifié par séquençage de la région 3' non transcrite du gène de la prothrombine (facteur II) une substitution nucléotidique (20210 G>A) (mutation Leiden du facteur II) associée à un risque accru de thrombose veineuse. L'acide désoxyribonucléique (ADN) de 28 sujets qui avaient une histoire personnelle et familiale de thrombose a été initialement étudié. La mutation était présente chez 18 % des sujets malades mais chez seulement 1 sur 100 sujets sains étudiés en parallèle. Le risque relatif de thrombose associé à la présence de cette substitution a été déterminé dans la LETS. Étaient porteurs de l'allèle A, 6,2 % des patients et 2,3 % des témoins, donnant un RR significatif de thrombose de 2,8. L'allèle A était, de plus, associé significativement à une augmentation de la concentration circulante de prothrombine, elle-même facteur de risque de thrombose (RR 2,1 pour une concentration plasmatique de facteur II supérieure à 115 %). Une production plus efficace ou une plus grande stabilité de l'ARNm muté pourraient expliquer l'association au taux de facteur II. La fréquence de cette mutation chez les Européens est de l'ordre de 2 %. Elle est plus fréquente au Sud de l'Europe qu'au Nord, très rare en Afrique et en Asie. L'analyse d'haplotype a démontré qu'elle résulte d'un effet fondateur [44].

> **"Point important**
>
> Les résultats des nombreuses études cas-contrôle publiées ont confirmé le risque accru de première thrombose veineuse (phlébite et embolie pulmonaire) associé à la présence de l'allèle A (RR compris entre 2 et 6 suivant les études) (Fig. 5) [29].

En revanche, dans l'étude prospective PHS, il induisait une augmentation plus modeste et non significative du risque (RR 1,7). L'effet est plus faible que celui du facteur V Leiden (RR 3) [45]. De façon intéressante, chez les porteurs asymptomatiques de la mutation issus de familles thrombophiliques (ou avec athérosclérose précoce), le risque d'événement thrombotique veineux (et artériel) étudié en prospectif n'apparaît pas augmenté [46].

En ce qui concerne le risque de récidive de thrombose veineuse associé à la présence de cet allèle, des études prospectives et rétrospectives ont été conduites avec des résultats souvent contradictoires. La revue systématique des études prospectives réalisée en 2007 ne permet pas de conclure [36].

D'après les résultats de la méta-analyse de Dentali et al., l'allèle A est facteur de risque de thrombose veineuse cérébrale (360 cas, 2 689 contrôles, RR 9,3) [32].

Enfin, la mutation apparaît également impliquée dans la survenue de fausses couches à répétition [33].

Un deuxième polymorphisme du gène du facteur II a fait l'objet d'études approfondies : localisé dans l'intron 13 du gène de la prothrombine, le polymorphisme 19911 A>G est en déséquilibre de liaison avec 20210 G>A. L'influence de ce polymorphisme sur le risque de thrombose veineuse a été étudiée par plusieurs équipes, en particulier hollandaises et italiennes. La méta-analyse de Gohill et al. et l'étude de cohorte de Reiner et al. sont en faveur d'un effet significatif de l'allèle G (RR de l'ordre de 1,2) [26, 27].

Risque thrombotique artériel

L'implication de la mutation 20210 G>A du facteur II dans la survenue d'infarctus du myocarde et d'accident vasculaire

cérébral a été étudiée par plusieurs équipes. Pour l'infarctus du myocarde, les résultats obtenus dans les premières études cas-contrôle étaient évocateurs d'un effet délétère potentiel de l'allèle A (RR significatif de l'ordre de 4), en particulier chez les femmes jeunes, mais dans d'autres études, aucun effet n'a pu être mis en évidence.

Dans les méta-analyses de Kim (16 945 sujets) [41] et de Ye (40 études analysées, 11 625 cas, 14 462 contrôles) [40], la présence de l'allèle A est associée significativement à la survenue d'événements coronariens (RR 1,3) ; dans l'étude de Burzotta (4 944 cas, 7 090 contrôles), la significativité n'est atteinte que chez les sujets de moins de 55 ans (RR 1,8) [47].

D'après les résultats de la méta-analyse de Casas (3 028 cas, 7 131 contrôles), l'allèle A est associé à un risque significativement augmenté d'accident vasculaire cérébral ischémique (RR 1,4) [42].

Diagnostic biologique

La recherche de la mutation 20210 G>A du facteur II fait appel aux techniques de biologie moléculaire. Toutes les techniques classiques de détection des mutations ponctuelles peuvent être employées (amplification suivie d'une digestion par enzyme de restriction, d'une hybridation, amplification spécifique d'allèle, PCR en temps réel, etc.). Des techniques d'amplification multiplexes permettent la recherche simultanée des mutations Leiden du facteur V et du facteur II.

Attitude thérapeutique

L'attitude thérapeutique est similaire à celle qui est adoptée chez les porteurs de la mutation Leiden du facteur V.

■ Influence des gènes qui codent d'autres protéines de la coagulation (Tableaux 2, 3)

Facteur VIII

Le facteur VIII est une glycoprotéine de grande taille (330 kDa) codée par un gène localisé sur le chromosome X mesurant 186 kb et comportant 26 exons. La protéine mature comporte 2 351 AA. Sa structure est analogue à celle du facteur V. Le facteur VIII comporte, comme le facteur V, six domaines A1A2BA3C1C2 dont le rôle est assez bien connu, à l'exception du rôle du domaine B, très sensible à la protéolyse. Le facteur VIII circulant est stabilisé par le facteur Willebrand au sein d'un complexe non covalent. Lors de l'activation du facteur VIII par la thrombine ou le facteur Xa, le domaine B est éliminé. Le facteur VIIIa se comporte comme un cofacteur du facteur IXa au sein du complexe tenase. La concentration plasmatique du facteur VIII dans la circulation est extrêmement variable, dépendante d'influences multiples, dont l'inflammation.

Le risque de thrombose veineuse est influencé par le taux plasmatique de facteur VIII [48].

En ce qui concerne le risque de première thrombose, dans la LETS, pour des concentrations de facteur VIII supérieures à 150 %, on observe un RR significatif de 4,8. En ce qui concerne le risque de récidive, dans l'étude de Kyrle, pour des concentrations de facteur VIII supérieures à 235 %, on note un RR significatif de 11,4 [49].

Tableau 2.
Polymorphismes des protéines de la coagulation modulateurs du risque thrombotique.

Protéine	Polymorphisme	Phénotype plasmatique	Relation génotype/symptomatologie
Maladie thrombotique veineuse			
FV	R506Q (Leiden)	RPCA	RR 3-5
FV	*F5* HR2	Légère RPCA, Δ ratio formes glycosylées	Non exclue
FII	*F2* 20210 G>A	Δ FII circulant, mécanisme incertain	RR 2-3
FII	*F2* 19911 A>G	*DL/*F2* 20210 G>A	RR 1,2
Fibrinogène α	Thr312Ala	Δ structure du caillot ; *DL/H2 chaîne γ	Non exclue
Fibrinogène β	*FBGB* : -455 G >A	Δ concentration	Non exclue
Fibrinogène β	*FBGB* : BclI	Δ concentration	Non exclue
Fibrinogène γ	*FBGG* : H2 H3	Δ structure du caillot ; H2 *DL/Thr312Ala	Non exclue
Facteur IX	*F9* : locus		Possible (RR 1,2)
Facteur XI	*F11* : locus		Possible (RR 1,3)
FXIII	Val34Leu	Δ v activation	RR 0,8
EPCR	Ser219Gly	Δ concentration EPCR soluble	Non exclue
PAI1	*SERPINE1* -675 4G>5G	Δ concentration	Non exclue
GPVI	*GP6:* rs1613662 A		Possible (RR 1,15)
Maladie thrombotique artérielle			
FV	R506Q (Leiden)	RPCA	IDM : ? AVC : possible (RR 1,4)
FII	*F2* 20210 G>A	Δ FII circulant	IDM : possible (RR1,3) AVC : possible (RR1,4)
Fibrinogène α	*FBGA* : Thr312Ala	Δ structure du caillot ; *DL/H2 chaîne γ	Non exclue
Fibrinogène β	*FBGB* : -455 G >A	Δ concentration	Non exclue
Fibrinogène β	*FBGB* : BclI	Δ concentration	Non exclue
Fibrinogène γ	*FBGG* : H2 H3	Δ structure du caillot ; H2 *DL/Thr312Ala	Non exclue
FXIII	Val34Leu	Δ v activation	Non exclue
EPCR	*PROCR* : H1, H3	Δ concentration EPCR soluble	Non exclue (IDM et AVC)
PAI1	*SERPINE1* -675 4G>5G	Δ concentration	Improbable
GPIba	*GP1BA : -5 C >T ;* Thr145Met	-5 C >T : Δ densité récepteur	IDM : non ? AVC : possible (RR 1,3)

RPCA : résistance plasmatique à la protéine C activée ; RR : risque relatif ; DL : déséquilibre de liaison, IDM : infarctus du myocarde, AVC : accident vasculaire cérébral ischémique ; EPCR : *endothelial cell protein C/activated protein C receptor* ; PAI1 : inhibiteur rapide spécifique du tpA ; Δ : anomalie.

Tableau 3.
Grandes études publiées en 2007-2009.

		Tregouet et al. Blood 2009[a]	Smith et al. JAMA 2007[a]	Reiner et al. J Thromb Haemost 2009[a]	Bezemer et al. JAMA 2008[a]	Gohill et al. Thromb Haemost 2009[a]	Smith et al. J Thromb Haemost 2008[a]
		TV (GWAS, MARTHA, FARIVE)[b]	TV (F post-ménopause)[b]	TV (sujets > 65 ans)[b]	TV (LETS/MEGA1et2)[b]	TV[b]	IDM non fatal et AVC (hypertendus et F post-ménopausées)[b]
		453 K, 1 327 T[c]	TV (F post-ménopause)[c]	TV 184 K, 5 202 non-K (cohorte CHS)[c]		Méta-analyse (12 000 K, 180 000 T)[c]	IDM 856 K, AVC 368 K, 689 T[c]
Protéines	*Gènes*						
F tissulaire	*FT*	x	RR 2,5	x			S (IDM)
TFPI	*TFPI*	x	RR 0,5	x			x
Fibrinogène Chaînes α/β/γ	*FBGA/B/G*	S (rs 867186) (en DL/ Thr312Ala et *FGG* rs2066865)	*FBGA*:RR1,2 *B*:RR1,3 *G*:RR1,2	x		Thr312Ala : RR1,37-455GA : RR 0,84	*FBGG* : S (AVC)
FII	*F2*	x	RR1,8	19911GG : RR 1,66	20210G>A : RR3,2	20210G>A : RR3,17 11991G>A : RR1,17	x
Thrombine récepteur	*F2R*			RR 0,5			
FV	*F5*	S	S K858R : RR 0,7	HR2 : NS rs3753305 : RR 1,28	S : FVL et K858R	S : FVL, et HR2 : RR1,24	FVL/AVC : RR 1,5 *F5* : S/IDM
FVII	*F7*	x	x	x			x
FVII *activating protease* (FSAP)	*HABP2*			RR 0,5			
FVIII	*F8*	x	x	x			S/AVC
FIX	*F9*	x	RR 1,4	x	RR 1,17 (hommes)		S/IDM
FX	*F10*	x	RR 0,8	x			S/AVC
FXI	*F11*	S	S dont 22771G>A RR 1,3	rs3756008 : RR 1,28			S/AVC et IDM
FXII	*F12*	x	x				x
FXIII A	*F13A1*	x	x	RR 1,6		Val34Leu RR 0,8	S/AVC RR 1,8
FXIII B	*F13B*	x	x	x			x
FXIII Val34Leu	*F13 A*						x
F Willebrand	*FW*	x					
Antithrombine	*SERPINC1*	rs2227589 : NS	x	rs2227589 : NS	rs2227589 : RR 1,29		x
Protéine C	*PROC*	x	promoteur : RR 0,8 11310A>G : RR 1,3	x			x
EPCR	*PROCR*	S (Ser219Gly)	x	x			S/AVC et IDM
Thrombomoduline	*THBD*	x	RR 1,24	x			x
Protéine S	*PROS1*	S	RR 1,8	x			x
Protéine Z	*PROZ*			x			
Plasminogène	*PLG*	S	x	x			S/IDM : RR 1,2 S/IDM
t-PA	*PLAT*	x	x	x			S/AVC
u-PA	*PLAU*	x		x			
u-PA récepteur	*PLAUR*			RR 0,6			
PAI1	*SERPINE1*	x	RR 1,24	x		4G5G : 1,62	S/AVC RR 1,5
α2 antiplasmine	*SERPINF2*	x					
TAFI	*TAFI*	x	RR 0,5				x
GPVI	*GP6*	RR 0,8		x	RR 1,15		

K : cas ; T : témoin ; F : femme ; IDM : infarctus du myocarde ; AVC : accident vasculaire cérébral ischémique ; S : significatif ; DL : déséquilibre de liaison ; x: étudié, sans effet significatif ; FVL : FV Leiden. [a] Références. [b] Contexte clinique. [c] Effectifs.

La concentration plasmatique du facteur VIII est largement déterminée par le groupe sanguin et la concentration plasmatique du facteur Willebrand. Néanmoins, un déterminisme familial des concentrations plasmatiques du facteur VIII indépendant de ces paramètres a été mis en évidence [50].

Les gènes impliqués dans cette modulation sont, à ce jour, inconnus. La recherche dans les régions promotrices et 3' du gène du facteur VIII de polymorphismes modulateurs a été négative. La recherche de polymorphismes modulateurs dans les gènes de protéines impliquées dans le métabolisme du facteur VIII (récepteur β2 adrénergique, *low density lipoprotein receptor-related protein* [LRP], etc.) est, pour l'instant, décevante.

Fibrinogène

Le fibrinogène circulant (2-4 g/l) est constitué d'un dimère de trois chaînes polypeptidiques Aα, Bβ et γ. Les chaînes α et β sont clivées par la thrombine qui libère les fibrinopeptides A et B et expose les sites de polymérisation de la fibrine. Le facteur XIII activé par la thrombine stabilise la fibrine. Les trois chaînes

sont codées par des gènes séparés regroupés dans une zone de 50 kb située sur le chromosome 4 [51]. Les gènes codant les chaînes α, β et γ comportent respectivement 5, 8 et 10 exons qui s'étendent sur plus de 8, 8 et 10 kb. Les trois chaînes sont synthétisées séparément dans les hépatocytes puis assemblées avant la sécrétion. La synthèse de la chaîne Bβ est l'étape qui limite la production de la protéine. Des mutations affectant la production de cette chaîne peuvent donc modifier le taux de fibrinogène circulant. L'expression du gène de la chaîne β est sous la dépendance de plusieurs facteurs, en particulier C/EB, HNF1 et NF-IL6, qui possèdent des sites de liaison dans la région proximale du promoteur. Le contrôle de la transcription de ce gène est complexe, les facteurs de transcription agissant de façon coopérative, en contrôlant à la fois la sécrétion basale et la sécrétion induite par l'IL6. L'expression du gène, particulièrement en phase d'inflammation, est influencée par les hormones stéroïdes. La région du gène du fibrinogène β située entre -2900 et -1500 est impliquée dans l'expression hormonodépendante [52].

Il existe deux formes quantitativement minoritaires du fibrinogène dans la circulation qui résultent d'un épissage alternatif de la chaîne γ (γ′, environ 10 % du fibrinogène circulant) ou de la chaîne α (1 %).

La chaîne γ′, qui forme un hétérodimère avec la chaîne γA, a un rôle modulateur de l'activité de la thrombine et du facteur XIIIa, et une influence significative sur la structure du caillot [53].

De nombreux polymorphismes des gènes du fibrinogène ont été identifiés. Dans les régions non codantes, on trouve pour Aα un polymorphisme TaqI en 3′ du gène, pour Bβ un polymorphisme BclI en 3′ du gène et plusieurs polymorphismes dans la région promotrice en 5′ (-148 C>T, -455 G>A qui affecte un élément de régulation, et -854 G>A). Ils expliquent globalement 1 % à 15 % de la variabilité de la concentration plasmatique du fibrinogène dans la population générale. Deux polymorphismes (Thr 312 Ala de la chaîne Aα et Arg 448 Lys de la chaîne Bβ) sont localisés dans les régions codantes ; la mutation Thr 312 Ala située dans une région impliquée dans l'interaction fibrinogène/facteur XIII influence la structure du caillot [54]. Les déterminants génétiques de la concentration circulante de fibrinogène γA/γ′ sont mal connus. Cependant, deux des quatre haplotypes du gène qui code pour la chaîne γ (H2 ετ H3) participent à ce déterminisme. Thr 312 Ala de la chaîne Aα est en fort déséquilibre de liaison avec H2, ce qui explique probablement les effets pathogènes qui lui sont attribués [53].

En ce qui concerne la pathologie thrombotique, d'une part il existe des dysfibrinogénémies constitutionnelles qui n'affectent qu'un nombre très limité de familles et, d'autre part, les modifications du taux de fibrinogène sont associées au risque cardiovasculaire.

Environ 300 cas de dysfibrinogénémies constitutionnelles ont été rapportés et seulement 30 % d'entre elles environ sont susceptibles d'engendrer des thromboses. L'analyse des gènes a permis d'identifier les mutations causales chez plusieurs malades. Une base de données qui regroupe les mutations identifiées est accessible sur Internet (www.geht.org/databaseang/fibrinogen).

Les mécanismes mis en jeu dans la constitution des thromboses artérielles, et en particulier l'influence relative des facteurs environnementaux et des facteurs génétiques, sont progressivement précisés. Dans ce contexte clinique, l'architecture du caillot de fibrine est altérée, avec des anomalies de la structure des fibres et de la perméabilité qui semblent cependant être plus dépendantes d'influences environnementales que d'influences génétiques [54]. Parmi les facteurs environnementaux impliqués, on peut citer la réaction inflammatoire qui augmente rapidement et fortement la concentration plasmatique du fibrinogène, la prise de contraceptif oral, la grossesse et la ménopause, l'âge et l'obésité. L'influence du tabac est particulièrement importante. Une réponse inflammatoire chronique à l'usage du tabac serait à l'origine de l'augmentation du taux de fibrinogène observée. Ce mécanisme expliquerait en grande partie l'existence de la relation forte tabagisme-IDM.

De grandes études de cohortes ont démontré que la concentration de fibrinogène est associée positivement au risque cardiovasculaire. Dans une étude anglaise d'envergure (Northwick Park Heart Study, NPHS) portant sur 1 511 hommes d'âge moyen [55], l'élévation d'une déviation standard du fibrinogène plasmatique (environ 0,6 g/l) est associée à une augmentation de 84 % du risque d'IDM survenant dans les 5 ans. Les résultats d'autres études confirment la réalité de cette association dans les contextes d'IDM, de cardiopathie ischémique et d'AVC ischémique. Cependant, les résultats d'une méta-analyse de 19 études (12 393 cas, 21 649 contrôles) ne sont pas en faveur d'un effet causal du fibrinogène [56].

L'implication des polymorphismes des gènes du fibrinogène dans la pathologie artérielle a été largement étudiée. Le polymorphisme BclI et la mutation Thr 312 Ala pourraient être associés à cette pathologie ; pour la substitution en -455 et le polymorphisme Arg 448 Lys, les différentes études ont apporté des résultats contradictoires. Pour - 455 G>A, une méta-analyse de 2005 concluait à l'absence d'effet [56].

H2 et H3 des chaînes γ pourraient avoir une influence significative sur les risques artériels et veineux mais les résultats disponibles à ce jour méritent d'être confirmés [53].

Smith et al. ont étudié l'implication de 24 gènes candidats du système de l'hémostase dans la survenue de premier IDM ou d'AVC ischémique chez des sujets hypertendus et des femmes ménopausées (856 IDM, 368 AVC, 2 689 témoins). Dans cette population, les marqueurs génétiques de la chaîne γ ont une influence significative sur le risque d'AVC ; aucune autre influence n'est relevée [57].

Smith et al. ont de plus étudié l'implication des mêmes gènes dans la survenue de thrombose veineuse chez des femmes ménopausées (étude cas-témoin 354 cas, 1 680 témoins). Les marqueurs génétiques des chaînes α, β et γ ont une influence significative mais modeste (de l'ordre de 1,2) [58]. D'après la méta-analyse de Gohill, Thr 312 Ala et -455 G>A ont des effets significatifs avec des RR respectifs de 1,37 et 0,84 [26]. Dans l'étude GWAS de Tregouet et al., on retrouve l'effet significatif d'un polymorphisme en déséquilibre de liaison avec H2 et Thr 312 Ala [59]. En revanche, les gènes qui codent pour les chaînes du fibrinogène ne sont pas impliqués dans la survenue d'événements veineux dans la cohorte de Reiner et al. [27].

Facteur VII

Le facteur VII est une protéine vitamine K-dépendante d'origine hépatocytaire, de MM 48 kDa, qui circule dans le sang sous forme monocaténaire inactive à la concentration moyenne de 450 μg/l. Cette protéine monocaténaire comporte un domaine GLA, deux domaines EGF et un domaine sérine-protéase. Le facteur VIIa, actif, est généré par protéolyse limitée du facteur VII par les facteurs IXa, Xa ou XIIa. Il existe une régulation positive en feedback au niveau transcriptionnel par le F1+2, produit d'activation de la prothrombine par le facteur Xa. Le facteur VIIa est actif sous forme d'un complexe facteur VIIa-facteur tissulaire qui initie la coagulation par protéolyse limitée des facteurs IX et X.

Le gène du facteur VII situé sur le chromosome 13 s'étend sur 13 kb [60]. Plusieurs polymorphismes ont été mis en évidence, dont Arg 353 Gln dans les régions codantes, une insertion de 10 nucléotides en position -323, et des substitutions nucléotidiques -670 A>C, -402 G>A, -401 G>T, -59 T>G, -32 A>C au sein du promoteur, et une région polymorphe hypervariable (HVR4) au sein de l'intron 7. Ces polymorphismes pourraient expliquer environ 30 % de la variation de la concentration plasmatique de la protéine [61]. Le taux de facteur VII plasmatique pourrait être associé positivement au risque cardiovasculaire. Chez les patients de la Northwick Park Heart Study (NPHS), l'élévation d'une déviation standard de l'activité coagulante du facteur VII (facteur VIIc) est associée à une augmentation de 54 % du risque d'IDM survenant dans les 5 ans chez les hommes de 55-64 ans. Cependant, dans d'autres études, cette association n'a pas été confirmée, le plus probablement à cause de l'ajustement aux autres facteurs de risque cardiovasculaire. En fait, des difficultés d'interprétation proviennent également de la nature des méthodes de dosage utilisées. Des études transversales ont

montré l'existence d'une corrélation positive entre l'activité du facteur VII et les taux sériques de cholestérol total et de triglycérides [62]. Ceci pourrait expliquer, en partie, le lien qui existe entre hypertriglycéridémie et thrombose artérielle.

Le déterminisme génétique des taux de facteur VII et de l'association triglycérides/facteur VII a été bien démontré dans une étude effectuée sur 215 paires de jumeaux. Le polymorphisme en 353 serait à l'origine de cette association [63]. Les polymorphismes en -401 et -402 influencent l'activité transcriptionnelle du promoteur et la concentration de facteur VII circulant [64].

L'implication des polymorphismes du gène du facteur VII dans la maladie coronaire reste incertaine.

Plusieurs études qui se sont intéressées à des populations relativement hétérogènes sur le plan clinique ont apporté des résultats contradictoires. La méta-analyse de Ye et al. publiée en 2006 a repris les résultats obtenus dans 24 études cas-contrôle (7 444 cas, 12 110 contrôles). Aucune association significative n'a pu être mise en évidence [40].

L'influence du génotype du facteur VII sur la survenue d'AVC a été recherchée : dans une méta-analyse de trois études (500 cas-500 contrôles), aucune association significative n'a été mise en évidence [42].

Phénotype ou génotype du facteur VII ne semblent pas modifier le risque de survenue de thrombose veineuse [27, 58, 59, 65].

Facteur XIII

Le facteur XIII est une transamidase tétramérique de 320 kDa qui comporte deux sous-unités A et deux sous-unités B. Après clivage par la thrombine entre les résidus en positions 37 et 38 de la sous-unité A, le facteur XIIIa catalyse la formation de liaisons ε (γ-glutamyl) lysine covalentes entre les chaînes des monomères de fibrine qui augmentent la résistance mécanique du caillot. La sous-unité B qui n'a pas d'activité enzymatique est impliquée dans la stabilisation de la sous-unité A.

Le gène codant pour la sous-unité A du facteur XIII, situé sur le chromosome 1, s'étend sur plus de 160 kb. Il existe quatre polymorphismes communs des régions codantes de ce gène qui induisent les transformations Val 34 Leu, Pro 564 Leu, Val 650 Ile et Glu 651 Gln [66].

Le polymorphisme Val 34 Leu modifie un acide aminé très proche du site d'activation du facteur XIII par la thrombine. In vitro, le facteur XIII porteur d'une leucine en 34 est plus rapidement activé et dégradé par la thrombine que le facteur XIII porteur d'une valine. De plus, en présence de fortes concentrations de fibrinogène, la mutation influence la structure du caillot qui est plus perméable et moins résistant à la fibrinolyse lorsque le facteur XIII est porteur de Leu [67].

Ce polymorphisme était un bon candidat à évaluer vis-à-vis du risque cardiovasculaire, contexte où les augmentations du fibrinogène circulant sont fréquentes. Les études cliniques réalisées en pathologie artérielle (infarctus du myocarde et cérébral) ne permettent pas de conclure avec certitude [42, 57].

En ce qui concerne la thrombose veineuse, dans deux méta-analyses de grande envergure, un effet protecteur faible mais significatif de l'allèle Leu est rapporté (homozygotie : RR 0,6, hétérozygotie : RR 0,8) [26, 68]. Une étude de cohorte rapporte un effet significatif du gène du FXIII (RR1.6) indépendant de cet allèle [27] (Tableau 2).

La sous-unité B apparaît très polymorphe au niveau protéique mais les bases génétiques de cette hétérogénéité phénotypique ne sont pas établies. Un polymorphisme commun entraîne une substitution d'acide aminé (His 95 Arg) qui semble avoir des conséquences sur la stabilité du facteur XIII. En ce qui concerne la thrombose veineuse, dans la LETS, le variant Arg a une influence significative (RR 1,5) [69], mais dans trois grandes études récentes, le gène de cette sous-unité n'a pas d'effet [27, 58, 59].

« Endothelial cell protein C/activated protein C receptor (EPCR) »

L'EPCR est une protéine transmembranaire de 43 kDa (238 AA) de la cellule endothéliale vasculaire, récepteur de la PC. Elle est présente majoritairement sur les gros vaisseaux où elle assure une forte concentration locale de PC que peut activer le complexe thrombine-thrombomoduline. Il existe dans le plasma une forme minoritaire soluble générée à partir de l'EPCR endothélial par une métalloprotéase. La courbe de distribution de l'EPCR soluble chez les sujets sains est bimodale. Le gène de l'EPCR (6 kb) est situé sur le chromosome 20. Il comporte quatre exons et trois introns. Il existe quatre haplotypes (H1-H4) communs du gène. Parmi les variations de séquence identifiées, on trouve une insertion de 23 pb dans l'exon 3 (qui code pour la plus grande partie du domaine extracellulaire) qui génère un codon stop et une mutation ponctuelle dans l'exon 4 qui induit la transformation Ser 219 Gly, marqueur de l'haplotype H3. L'insertion de 23 pb est une mutation rare (inférieure à 1 % dans la population générale) pour laquelle aucun rôle délétère n'a pu être formellement démontré. La mutation Ser 219 Gly a une influence certaine sur le taux d'EPCR ; sa présence explique la courbe de distribution du taux d'EPCR soluble (EPCRs). Des taux bas d'EPCRs sont associés très significativement à un risque réduit de thrombose veineuse [70].

En ce qui concerne les relations génotype/phénotype clinique, elles restent à ce jour incertaines dans le contexte veineux. En effet, Tregouet et al. rapportent un effet significatif de Ser 219 Gly [59], mais, en revanche, dans deux autres grandes études, aucune influence génotypique n'est mise en évidence [27, 58].

Smith et al. mettent en évidence un effet significatif du génotype vis-à-vis du risque d'IDM et d'AVC [57]. De plus, d'après Medina et al., les haplotypes A1 et A3 pourraient être protecteurs vis-à-vis de l'IDM précoce (RR de l'ordre de 0,6) [71].

Thrombomoduline

La thrombomoduline est un autre récepteur membranaire présent sur la cellule endothéliale vasculaire. Elle fixe la thrombine et modifie sa spécificité. En effet, la thrombine fixée à la thrombomoduline perd toutes ses fonctions procoagulantes et acquiert une grande capacité d'activation de la PC. Le gène de la thrombomoduline est un gène sans intron situé sur le chromosome 20. Sa région codante comporte 1,7 kb. L'implication des régions codantes et du promoteur du gène de la thrombomoduline dans la survenue des thromboses veineuses et artérielles a été étudiée par plusieurs groupes. Plusieurs variations de séquence ont été mises en évidence. Aucune de ces mutations n'est facteur de risque établi de thrombose [72].

Pour la pathologie artérielle, le rôle d'une mutation du promoteur (-33 G>A), qui est rare dans les populations européennes mais beaucoup plus fréquente en Asie, a été évoqué [73], mais jamais confirmé. Dans l'étude de Smith et al., les polymorphismes étudiés ne sont pas significativement associés aux événements cliniques (IDM ou AVC) [57].

Une seule parmi trois grandes études récentes [27, 58, 59] montre une association significative avec un effet global du gène vis-à-vis du risque de thrombose veineuse (RR 1,24) [58].

■ Influence phénotypique et génotypique des protéines de la fibrinolyse (Tableaux 2, 3)

Inhibiteur de l'activateur du plasminogène

Le PAI1 est un inhibiteur rapide et spécifique de l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA) et de l'urokinase appartenant à la superfamille des serpines. Le PAI1 est une glycoprotéine de MM 50 kDa comportant 379 AA. Son site actif est localisé en C-terminal au niveau d'une structure en boucle comprenant une liaison Arg 346-Met 347. Le PAI1 est produit par la cellule endothéliale et l'hépatocyte et est contenu dans les plaquettes. La contribution relative de ces trois sources à l'activité PAI1 plasmatique n'est pas établie avec certitude. Le PAI1 circulant, présent à la concentration moyenne de 50 ng/ml, existe pour partie sous forme latente, pour partie sous forme active, lié

à la vitronectine. La concentration de PAI1 est le déterminant majeur de l'activité fibrinolytique plasmatique. Le PAI1 forme rapidement avec la protéase cible un complexe inactif initialement réversible qui devient irréversible après scission de la liaison Arg 346-Met 347 et libération d'un peptide de 33 AA.

La concentration circulante de PAI1 est très variable. Elle est fortement influencée par des facteurs environnementaux. Ainsi, le syndrome d'insulinorésistance et l'inflammation sont associés à de fortes augmentations du PAI circulant. Dans une étude française familiale concernant des sujets sains, il a été clairement démontré que la concentration plasmatique du PAI1 était largement dépendante du syndrome d'insulinorésistance (qui expliquait 49 % de la variance chez les hommes). De fortes concentrations de PAI1 sont associées à des désordres thrombotiques variés : le PAI1 est impliqué dans la pathologie coronarienne ; les concentrations plasmatiques de PAI1 sont corrélées à l'étendue de l'athérosclérose de la paroi vasculaire ; elles sont associées au risque d'événements coronariens chez les patients souffrant d'angine de poitrine [74].

La régulation du métabolisme du PAI1 fait intervenir de nombreux agents tels que le *tumor necrosis factor* (TNF), l'IL1, le *transforming growth factor beta* (TGFβ), les liposaccharides, les hormones glucocorticoïdes, les lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et l'insuline. Une part importante de cette régulation est effectuée au niveau post-transcriptionnel. Les effets des cytokines passent probablement par la modulation de la transcription du gène.

Le gène du PAI1 situé sur le chromosome 7 s'étend sur 16 kb [75]. Plusieurs polymorphismes ont été mis en évidence, dont un polymorphisme de restriction Hind III, deux minisatellites de type CA (l'un dans le promoteur, l'autre dans l'intron 4), un polymorphisme d'insertion (5G)/délétion (4G) en position -675 du promoteur, deux substitutions G>A en positions -844 et 9785, une substitution T>G en 11053 et une délétion de neuf nucléotides entre 11320 et 11345.

Dans plusieurs études, une association significative du polymorphisme 4G/5G à la concentration plasmatique du PAI1 a été démontrée. En ce qui concerne l'association à la pathologie coronarienne, de nombreux travaux ont été réalisés avec des résultats contradictoires. Les résultats de la méta-analyse de Ye et al. (11 763 cas, 13 905 contrôles) [40] et les résultats obtenus à partir des effectifs de l'étude prospective PHS [76] ne sont pas en faveur d'une telle association. En pathologie thrombotique veineuse, Smith et al. démontrent un effet global du gène (RR 1,24) [58], mais Tregouet et al. et Reiner et al. ne confirment pas ce résultat [27, 59]. Dans la méta-analyse de Gohill et al., le RR associé à la présence du polymorphisme 4G/5G est modeste mais significatif [26].

Ce polymorphisme ne serait pas associé à la survenue d'AVC ischémique [42], mais un effet global du gène (RR 1,5) a été rapporté [57].

Les autres polymorphismes n'ont pas, à ce jour, d'effet démontré.

Activateur tissulaire du plasminogène (tPA)

Le tPA est une sérine protéase de 70 kDa comportant 527 AA, présente en très faible concentration dans le plasma (de l'ordre de 70 pM), liée pour 80 % à son inhibiteur spécifique, le PAI1. Le tPA est libéré à partir de la cellule endothéliale vasculaire stimulée. Le site actif se situe à l'extrémité C terminale (His 322, Asp 371, Ser 478) de la molécule. Le tPA transforme le plasminogène en plasmine, enzyme majeure du système fibrinolytique. L'efficacité catalytique du tPA est grandement majorée en présence de fibrine.

Pendant de longues années, on a considéré que l'hypofibrinolyse par anomalie de libération du tPA pouvait favoriser la survenue de thrombose. À la lumière des travaux les plus récents, il apparaît que, à l'inverse, ce sont les augmentations de la concentration plasmatique du tPA (qui reflètent en fait les augmentations de concentration du complexe PAI1-tPA) qui sont des marqueurs de risque coronarien. Ainsi, dans deux grandes études prospectives portant respectivement sur des sujets sains et des sujets coronariens (PHS et ECAT), les sujets ayant des concentrations plasmatiques de tPA augmentées ont un RR d'infarctus du myocarde accru. Les variations du tPA sont largement influencées par le syndrome d'insulinorésistance et l'inflammation [74].

Le gène du tPA, situé sur le chromosome 8, comporte 14 exons [77]. Plusieurs polymorphismes ont été mis en évidence. L'un d'entre eux, dans l'intron h, est un polymorphisme d'insertion/délétion d'une séquence Alu. L'implication de ce polymorphisme dans la maladie cardiovasculaire a fait l'objet de plusieurs études : aucune association n'a été mise en évidence dans la PHS [78]. Les résultats de plusieurs études cas-contrôle sont contradictoires. Trois polymorphismes (-7351 C>T, 20099 T>C, 27445 T>A) sont en déséquilibre de liaison avec le polymorphisme Alu. Le polymorphisme en -7351 est situé dans un élément de régulation du promoteur. Il pourrait être associé à la pathologie cardiovasculaire et en particulier à la survenue d'IDM [79, 80]. Dans l'étude de Smith et al., un effet global significatif du gène vis-à-vis de la survenue d'AVC ischémique est mis en évidence [57].

« Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) »

Le TAFI est une carboxypeptidase plasmatique impliquée dans la régulation de la fibrinolyse. Activée par le complexe thrombine-thrombomoduline, elle élimine les résidus Lys et Arg carboxyterminaux de la fibrine, ce qui induit une réduction de la fixation du plasminogène à sa surface et donc une modulation de la fibrinolyse. In vivo, des concentrations augmentées de TAFI ont été associées à un risque accru de thrombose veineuse. Vis-à-vis de la pathologie coronaire, les résultats obtenus sont contradictoires.

Il existe une forte variabilité interindividuelle des concentrations plasmatiques qui pourrait être d'origine génétique. Plusieurs polymorphismes du gène ont été identifiés dans les régions promotrices, 3' non transcrite et codante. Ils sont en fort déséquilibre de liaison et forment quatre haplotypes principaux associés aux taux [81]. Les études qui se sont intéressées à l'influence du polymorphisme Ala 147 Thr sur le risque thrombotique artériel apportent des résultats contradictoires [61].

En ce qui concerne la pathologie thrombotique veineuse, pour le polymorphisme -438 G>A, une association significative a été relevée dans deux études mais pas dans la LETS. En revanche, le polymorphisme Ala 147 Thr a une influence significative dans cette dernière étude [82]. Dans une étude cas-contrôle nichée réalisée à partir des effectifs de l'étude prospective PHS, les polymorphismes du TAFI ne sont pas associés à la thrombose veineuse [83]. Plus récemment, un effet significatif global du gène a été mis en évidence dans l'étude de Smith et al. [58], mais pas dans celle de Tregouet et al. [59].

■ Récepteurs plaquettaires

(Tableaux 2, 3)

Le bon fonctionnement des plaquettes est dépendant de la présence des glycoprotéines (GP) de membrane, en particulier des GPIIb-IIIa (intégrine α2β3) (80 000 récepteurs en moyenne par plaquette) et Ib-IX-V (25 000 récepteurs par plaquette), qui jouent un rôle fondamental dans le déclenchement des processus d'adhésion et d'agrégation plaquettaire. Ainsi, un mécanisme essentiel à l'origine du processus d'adhésion est la liaison de GPIb-IX-V au facteur Willebrand fixé au sous-endothélium des vaisseaux lésés. Le déclenchement de ce processus va conduire à l'activation des plaquettes au cours de laquelle la conformation du récepteur IIb-IIIa va être modifiée. Lorsque les forces de cisaillement sont élevées, IIb-IIIa va alors lier le facteur Willebrand et par cette liaison induire l'agrégation. Lorsque les forces de cisaillement sont faibles, l'agrégation implique préférentiellement la liaison de IIb-IIIa au fibrinogène. Certaines glycoprotéines de la surface plaquettaire sont médiatrices d'interactions directes plaquettes/collagène. Les plus importantes d'entre elles sont le complexe GPIa-IIa (intégrine α2β1 ou VLA2) (1 000 à 3 000 récepteurs par plaquette) et la GPVI [84]. Les récepteurs à l'adénosine diphosphate (ADP), $P2Y_1$ et $P2Y_{12}$,

interviennent comme modulateurs de l'affinité du récepteur IIb-IIIa pour le fibrinogène. De nombreux polymorphismes des gènes qui codent pour ces glycoprotéines ont été identifiés [85].

GPIIb-IIIa

GPIIb est une protéine de 150 kDa qui s'associe à la GPIIIa, polypeptide de 90 kDa. Les gènes qui codent pour ces deux glycoprotéines sont situés sur le chromosome 17. De nombreux polymorphismes de ces gènes ont été identifiés. Un polymorphisme commun de GPIIIa est une mutation ponctuelle qui induit la transformation Pro 33 Leu. L'allèle Leu (PLA1) est présent chez 85 % des Européens et l'allèle Leu (PLA2) chez 15 %. L'influence de l'allèle PLA2 en pathologie cardiovasculaire a fait l'objet de multiples travaux. Dans une petite étude cas-contrôle (71 patients/68 témoins) publiée en 1996, Weiss et al. rapportent une surreprésentation de l'allèle PLA2 chez les malades. Le risque relatif de maladie coronaire associé à la présence de cet allèle est de 2,8 pour l'ensemble de la population et de 6,2 pour les sujets de moins de 60 ans [86]. Dans les années suivantes, nombre d'études, et en particulier PHS et ECTIM, ont apporté des résultats négatifs (tous âges confondus et par tranches d'âge) [87, 88]. Les résultats d'une étude de cohorte et d'une étude cas-contrôle font exception. Dans la première, Carter et al. montrent une surreprésentation de PLA2 dans un petit groupe de sujets jeunes ayant souffert d'IDM [89] et dans la seconde, qui concerne une population similaire de 200 patients, PLA2 est surreprésenté chez les sujets fumeurs ayant souffert d'un IDM précoce [90]. Dans la méta-analyse de 43 études de Ye et al. (16 984 cas/22 893 contrôles), ce polymorphisme n'est pas associé significativement à la survenue d'événements coronariens [40]. Dans quatre études majeures (incluant la PHS), PLA2 n'est pas significativement associé à la survenue d'AVC.

GPIb-IX-V

Le complexe GPIb-IX-V comporte quatre protéines : GPIbα, protéine de 140 kDa, liée par liaison disulfure à GPIbβ, protéine de 25 kDa. Ces deux protéines sont associées par des liaisons non covalentes à GPIX (17 kDa) et GPV (82 kDa). Le site de liaison du facteur Willebrand est situé sur GPIbα. Les gènes codant pour ces quatre protéines ont été localisés respectivement sur les chromosomes 17, 22, 3 et 3. Plusieurs publications se sont intéressées à trois polymorphismes du gène de GPIbα :

- un polymorphisme de taille lié à la présence d'un nombre variable de *tandem repeats* (VNTR) de 39 pb codant pour 13 AA de la région glycosylée (cette région placerait la zone de liaison des ligands à distance adéquate de la surface plaquettaire) ;
- une substitution C>T responsable du remplacement de la thréonine en 145 par une méthionine, associée au système d'alloantigènes HPA2, en déséquilibre de liaison avec le polymorphisme de VNTR ;
- et une mutation ponctuelle -5 C>T qui pourrait influencer le degré d'expression du récepteur à la surface plaquettaire compte tenu de sa position.

Les résultats d'une première étude cas-contrôle de petite taille démontraient l'implication du polymorphisme de VNTR/Met 145 Thr dans la maladie coronarienne et cérébrovasculaire [91]. Les résultats d'une seconde étude cas-contrôle concernant des sujets jeunes survivants d'un IDM n'ont pas confirmé les données précédentes [90]. Le polymorphisme -5 C>T n'est pas associé significativement à la survenue d'événements coronariens dans la méta-analyse (14 études, 6 652 cas/5 188 contrôles) de Ye et al. [40]. Le polymorphisme Thr 145 Met est associé significativement à la survenue d'AVC dans la méta-analyse de Maguire et al., de même qu'un locus proche de -5 C>T [92].

GPIa-IIa

Le récepteur du collagène comporte deux sous-unités polypeptidiques, α2 de 167 kDa et β1 de 130 kDa. Il existe une grande variabilité individuelle de la densité du récepteur à la surface des plaquettes associée à une variabilité importante de la réponse au collagène. Cette variabilité est génétiquement déterminée, en particulier par le polymorphisme silencieux 807 C>T. De nombreuses études se sont intéressées à l'implication clinique de ce polymorphisme. Dans quelques études, l'allèle T est surreprésenté chez les sujets ayant souffert d'infarctus du myocarde ou d'accident vasculaire cérébral [93-95]. Dans d'autres études, aucun effet n'a pu être démontré. Ce polymorphisme n'est pas associé significativement à la survenue d'événements coronariens dans la méta-analyse de Ye et al. (réalisée à partir de 15 études publiées, 6 414 cas/7 732 contrôles) [40].

GPVI

GPVI (38 kDa) joue un rôle crucial dans l'activation et l'agrégation plaquettaire induite par le collagène. De façon intéressante, dans une recherche systématique de polymorphismes associés à la thrombose veineuse réalisée dans deux grandes études cas-témoin (LETS et MEGA), l'allèle A de rs1613662 localisé dans *GP6* augmente significativement le risque de thrombose (RR 1,15) [96]. Cette association a été retrouvée dans l'étude de Tregouet et al. [59].

Autres récepteurs plaquettaires

Des polymorphismes des récepteurs à l'ADP, $P2Y_1$ et $P2Y_{12}$, qui interviennent comme modulateurs de l'affinité du récepteur IIb-IIIa pour le fibrinogène, ont été mis en évidence. Ils ont une influence significative sur la réponse des plaquettes à l'ADP mais leur association à la survenue d'événements thrombotiques est à ce jour incertaine [97].

■ Influence des gènes codant d'autres protéines

Les progrès techniques permettent actuellement de s'intéresser simultanément, dans des études cas-contrôle, à de multiples loci au sein d'un nombre important de gènes. Les résultats obtenus dans les grandes études les plus récentes qui concernent les gènes de la coagulation sont rapportés dans le Tableau 3. Ainsi, en ce qui concerne le risque thromboembolique veineux, Smith et al. ont étudié simultanément l'influence de variations génétiques communes de 24 gènes candidats [58], et Reiner et al. l'influence de variations génétiques de 51 gènes candidats codant pour des protéines de la coagulation, de la fibrinolyse et de l'inflammation [27] ; Bezemer et al. ont testé 19 682 polymorphismes situés dans 10 887 gènes sélectionnés d'après leur potentiel à affecter leur fonction ou expression [96], et Tregouet et al., 300 000 polymorphismes répartis au sein du génome [59]. Les résultats sont décevants. Aucun nouveau facteur de risque génétique majeur n'a pu être mis en évidence. Dans les études de Bezemer et al. et Tregouet et al., outre l'effet de *GP6* déjà exposé, une association significative faible a été mise en évidence pour la région qui comporte le locus du *F11* située autour de *CYVP4*. Le gène du FXI a un effet significatif global dans deux autres études, de même que le gène du facteur IX [27, 58]. Hors du contexte de pathologie familiale, les allèles qui interviennent en pathologie cardiovasculaire sont très probablement multiples et fréquents, chacun d'entre eux ne contribuant que pour une faible part au risque global. Ceci pourrait expliquer qu'aucun nouveau facteur de risque susceptible d'avoir des conséquences sur la prise en charge thérapeutique n'ait été mis en évidence depuis la découverte des mutations Leiden du facteur V et du facteur II.

D'autre part, de nouvelles méthodes de génétique statistique appliquées aux familles ont été développées. Ainsi, une équipe espagnole a entrepris l'analyse génétique d'une collection de familles thrombophiliques en utilisant ces nouvelles méthodes (GAIT study). Les objectifs de l'analyse étaient la quantification de l'héritabilité de la thrombose veineuse et artérielle, la localisation et l'identification des loci impliqués, l'analyse des actions conjointes des gènes sur le risque thrombotique. Une

influence significative de différentes régions du génome (Chr 10 p13, chr18 p, chr 16 q23, etc.) sur la survenue des thromboses a pu être mise en évidence, mais les gènes responsables ne sont toujours pas identifiés [98].

Une dernière approche a été proposée par Reitsma et al. Elle consiste à étudier complètement la séquence d'une centaine de gènes-candidats dans une étude cas-témoins de la thrombose veineuse comportant un effectif d'environ 10 000 sujets [99].

Les mécanismes qui déclenchent la survenue des thromboses, en particulier artérielles, mettent en jeu de très nombreux partenaires qui n'appartiennent pas au système de la coagulation. Ainsi, les analyses de polymorphismes les plus récentes concernent également des gènes qui codent pour des protéines impliquées dans les mécanismes d'adhésion cellulaire, de l'inflammation et de l'immunité, et dans le métabolisme lipidique.

■ Conclusion

Dans la maladie thromboembolique veineuse, à côté des déficits en inhibiteurs de la coagulation qui sont connus de longue date mais qui sont assez rares, deux mutations thrombogènes fréquentes (mutation Leiden du facteur V et mutation 20210 G>A du gène du facteur II) ont été découvertes en 1994 et 1996. Depuis lors, n'ont été découverts que des facteurs de risque mineurs qui n'influencent pas les attitudes thérapeutiques.

Dans la maladie thrombotique artérielle, de nombreux polymorphismes qui pourraient contribuer au développement de la thrombose artérielle ont été identifiés. Dans un certain nombre de cas, des relations significatives entre génotypes et phénotypes plasmatiques ont été mises en évidence. En revanche, la contribution exacte des génotypes aux phénotypes cliniques reste bien souvent incertaine. Ces incertitudes sont en partie explicables par la complexité des processus mis en jeu et par l'importance majeure des facteurs environnementaux dans le développement de cette pathologie.

Cet article a fait l'objet d'une prépublication en ligne : l'année du copyright peut donc être antérieure à celle de la mise à jour à laquelle il est intégré.



■ Références

[1] Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet* 1999; **353**:1167-73.
[2] Harper PL, Carrell RW. The serpins. In: Bloom AL, Forbes CD, Thomas DP, Tuddenham EG, editors. *Haemostasis and thrombosis*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1994. p. 641-53.
[3] Olds RJ, Lane DA, Chowdhury V, De Stefano V, Leone G, Thein SL. Complete nucleotide sequence of the antithrombin gene: evidence for homologous recombination causing thrombophilia. *Biochemistry* 1993;**32**:4216-24.
[4] Foster DC, Yoshitake S, Davie EW. The nucleotide sequence of the gene for human protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;**81**:4673-7.
[5] Aiach M, Nicaud V, Alhenc-Gelas M, Gandrille S, Arnaud E, Amiral J, et al. Complex association of protein C gene promoter polymorphism with circulating protein C levels and thrombotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;**19**:1573-6.
[6] Walker FJ, Fay PJ. Regulation of blood coagulation by the protein C system. *Am Soc Exp Biol J* 1992;**6**:2561-6.
[7] Dahlbäck B. The role of protein S and C4b binding protein, a story of affection. *Thromb Haemost* 2007;**98**:90-6.
[8] Schmidel DK, Tatro AV, Phelps LG, Tomczak JA. Organization of the human protein S gene. *Biochemistry* 1990;**29**:7845-52.
[9] Toltl LJ, Shin LY, Liaw PC. Activated protein C in sepsis and beyond: update 2006. *Front Biosci* 2007;**12**:1963-72.
[10] Abildgaard U. Antithrombin and related inhibitors of coagulation. In: Poller L, editor. *Recent advances in blood coagulation*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1981. p. 151-73.
[11] Tuddenham EG, Cooper DN. Protein C and protein C inhibitor. In: Tuddenham EG, Cooper DN, editors. *The molecular genetics of haemostasis and its inherited disorders*. New York: Oxford University Press; 1994. p. 149-60.
[12] Miletich J, Sherman L, Broze G. Absence of thrombosis in subjects with heterozygous protein C deficiency. *N Engl J Med* 1987;**317**:991-3.
[13] Briët E, Broekmans AW, Engesser L. Hereditary protein S deficiency. In: Bertina RM, editor. *Protein C and related proteins*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1988. p. 203-20.
[14] Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, et al. Inherited thrombophilia: Part 1. *Thromb Haemost* 1996;**76**:651-62.
[15] Lane DA, Olds RJ, Boisclair M, Chowdhury V, Thein SL, Cooper DN, et al. Antithrombin III mutation database: first update. *Thromb Haemost* 1993;**70**:361-9.
[16] Reitsma PH, Bernardi F, Doig RG, Gandrille S, Greengard JS, Ireland H, et al. Protein C deficiency: A database of mutations, 1995 update. *Thromb Haemost* 1995;**73**:876-89.
[17] Gandrille S, Borgel D, Sala N, Espinosa-Parrilla Y, Simmonds R, Rezende S, et al. Protein S deficiency: a database of mutations – summary of the first update. *Thromb Haemost* 2000;**84**:918.
[18] Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA, Bertina RM, Bochkov NP, Boulyjenkov V, et al. Inherited thrombophilia: Part 2. *Thromb Haemost* 1996;**76**:824-34.
[19] Lijfering WM, Mulder R, Ten Kate MK, Veeger NJ, Mulder AB, van der Meer J. Clinical relevance of decreased free protein S levels. Results from a retrospective family cohort study involving 1143 relatives. *Blood* 2009;**113**:1225-30.
[20] Vicente V, Rodriguez C, Soto I, Fernandez M, Moraleda JM. Risk of thrombosis during pregnancy and postpartum in hereditary thrombophilia. *Am J Hematol* 1994;**46**:151-60.
[21] Rosendaal FR. Venous thrombosis: the role of genes, environment and behaviour. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2005:1-2.
[22] Finazzi G, Caccia R, Barbui T. Different prevalence of thromboembolism in the subtypes of congenital antithrombin III deficiency: review of 404 cases. *Thromb Haemost* 1987;**58**:1094-9.
[23] Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* 2003;**361**:901-8.
[24] Vos HL. Inherited defects of coagulation factor V: the thrombotic side. *J Thromb Haemost* 2006;**4**:35-40.
[25] Castaman G, Faioni EM, Tosetto A, Bernardi F. The factor V HR2 haplotype and the risk of venous thrombosis: a meta-analysis. *Haematologica* 2003;**88**:1182-9.
[26] Gohill R, Peck G, Sharma P. The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving 120 000 cases and 180 000 controls. *Thromb Haemost* 2009;**102**:360-70.
[27] Reiner AP, Lange LA, Smith NL, Zakai NA, Cushman M, Folsom AR. Common hemostasis and inflammation gene variants and venous thrombosis in older adults from the Cardiovascular Health Study. *J Thromb Haemost* 2009;**7**:1499-505.
[28] Koster T, Rosendaal FR, de Ronde H, Briet E, Vandenbroucke JP, Bertina RM. Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. *Lancet* 1993;**342**: 1503-7.
[29] Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, Margaglione M, De Stefano V, Cumming T, et al. Combined effect of factor V leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism-pooled analysis of 8 case-control studies including 2 310 cases and 3 204 controls. Study group of pooled-analysis in venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2001;**86**:809-16.
[30] Vandenbroucke JP, Koeter T, Briet E, Reitsma PH, Bertina RM, Rosendaal FR. Increased risk of venous thrombosis in contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation. *Lancet* 1994;**344**: 1453-7.
[31] Martinelli I, Cattaneo M, Taioli E, De Stefano V, Chiusolo P, Mannucci PM. Genetic risk factors for superficial vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;**82**:1215-7.
[32] Dentali F, Crowther M, Ageno W. Thrombophilic abnormalities, oral contraceptives, and risk of cerebral vein thrombosis: a meta-analysis. *Blood* 2006;**107**:2766-73.
[33] Pabinger I, Vormittag R. Thrombophilia and pregnancy outcomes. *J Thromb Haemost* 2005;**3**:1603-10.
[34] Bounameaux H. Factor V Leiden paradox: risk of deep vein thrombosis but not of pulmonary embolism. *Lancet* 2000;**356**:182-3.
[35] Wai Khoon H, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia. *Arch Intern Med* 2006;**166**:729-36.
[36] Marchiori A, Mosena L, Prins MH, Prandoni P. The risk of recurrent venous thromboembolism among heterozygous carriers of factor V Leiden or prothrombin G20210A mutation. A systematic review of prospective studies. *Haematologica* 2007;**92**:1107-14.

[37] Segal JB, Brotman D, Necocjea AJ, Emadi A, Samal L, Wilson LM, et al. Predictive value of factor V Leiden and prothrombin G20210A in adults with venous thromboembolism and in family members of those with a mutation. *JAMA* 2009;**301**:2472-85.
[38] Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Eisenberg PR, Miletich JP. Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1995;**332**: 912-7.
[39] Emmerich J, Poirier O, Evans A, Marques-Vidal P, Arveiler D, Luc G, et al. Myocardial infarction, Arg 506 to Gln mutation and activated protein C resistance. *Lancet* 1995;**345**:321.
[40] Ye Z, Liu EH, Higgins JP, Keavney BD, Lowe GD, Collins R, et al. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66 155 cases and 91 307 controls. *Lancet* 2006;**367**:651-8.
[41] Kim RJ, Becker RC. Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies. *Am Heart J* 2003;**146**:948-57.
[42] Casas JP, Hingorani AD, Bautista LE, Sharma P. Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke. Thirty-two genes involving approximately 18 000 cases and 58 000 controls. *Arch Neurol* 2004;**61**: 1652-62.
[43] Alhenc-Gelas M, Aillaud MF, Delahousse B, Freyburger G, Le Querrec A, Reber G. La recherche de facteurs de risque établis de maladie thromboembolique veineuse : état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique. *STV* 2009;**21**(n°spécial): 12-39.
[44] Vicente V, Gonzalez-Conejero R, Rivera J, Corral J. The prothrombin gene variant 20210A in venous and arterial thromboembolism. *Haematologica* 1999;**84**:356-62.
[45] Ridker PM, Hennekens CH, Miletich JP. G20210A mutation in prothrombin gene and risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in a large cohort of US men. *Circulation* 1999;**99**: 999-1004.
[46] Coppens M, Van de Poel MH, Bank I, Hamulyak K, Van der Meer J, Veeger NJ, et al. A prospective cohort study on the absolute incidence of venous thromboembolism and arterial cardiovascular disease in asymptomatic carriers of the prothrombin 20210A mutation. *Blood* 2006;**108**:2604-7.
[47] Burzotta F, Paciaroni K, De Stefano V, Crea F, Maseri A, Leone G, et al. G20210A prothrombin gene polymorphism and coronary ischaemic syndromes: a phenotype-specific meta-analysis of 12 034 subjects. *Heart* 2004;**90**:82-6.
[48] Rosendaal FR. High levels of factor VIII and venous thrombosis. *Thromb Haemost* 2000;**83**:1-2.
[49] Kyrle PA, Minar E, Hirschl M, Bialonczyk C, Stain M, Schneider B, et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2000;**343**:457-62.
[50] Kamphuisen PW, Houwing-Duistermaat JJ, Van Houwelingen HC, Elkenboom JC, Bertina RM, Rosendaal FR. Familial clustering of factor VIII and von Willebrand factor levels. *Thromb Haemost* 1998; **79**:323-7.
[51] Kant JA, Fornace AJ, Saxe D. Evolution and organization of the fibrinogene locus on chromosome 4: gene duplication accompanied by transcription and inversion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;**82**:2344-8.
[52] Green F, Humphries S. Genetic determinants of arterial thrombosis. In: Meade TW, editor. *Thrombophilia clinical haematology*. New York: Baillière Tindall; 1994. p. 675-92.
[53] Uitte de Willige S, Standeven KF, Philippou H, Ariens RA. The peliotropic role of the fibrinogen γ' chain in hemostasis. *Blood* 2009; **114**:3994-4001.
[54] Scott EM, Ariëns RA, Grant PJ. Genetic and environmental determinants of fibrin structure and function. Relevance in clinical disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;**24**:1558-66.
[55] Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakrabarti RR, North RR, et al. Haemostatic function and ischemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986;**2**:533-7.
[56] Smith GD, Harbord R, Milton J, Ebrahim S, Sterne JA. Does elevated plasma fibrinogen increase the risk of coronary disease? Evidence from a meta-analysis of genetic association studies. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2005;**25**:2228-33.
[57] Smith NL, Bis JC, Biagiotti S, Rice K, Lumley T, Kooperberg C, et al. Variation in 24 hemostatic genes and associations with non-fatal myocardial infarction and ischemic stroke. *J Thromb Haemost* 2008;**6**: 45-53.
[58] Smith NL, Hindorff LA, Heckbert SR, Lemaitre RN, Marciante KD, Rice K, et al. Association of genetic variations with non fatal venous thrombosis in postmenopausal women. *JAMA* 2007;**297**:489-98.
[59] Tregouet DA, Heath S, Saut N, Biron-Andreani C, Schved JF, Pernod G, et al. Common susceptibility alleles are unlikely to contribute as strongly as the *FV* and *ABO* loci to VTE risk: results from a GWAS approach. *Blood* 2009;**113**:5298-303.
[60] O'Hara PJ, Grant FJ, Haldeman BA. Nucleotide sequence of the gene coding for human factor VII, a vitamin K-dependent protein participating in blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;**84**: 5158-62.
[61] Voetsch B, Losclazo J. Genetic determinants of arterial thrombosis. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2004;**24**:216-29.
[62] Balleisen L, Bailey J, Epping PH, Schulte H, Van De Loo J. Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population. I. Baseline data on the relation to age, gender, body weight, smoking, alcohol, pill using and menopause. *Thromb Haemost* 1985;**54**:475-9.
[63] Hong Y, Pedersen NL, Egberg N, de Faire U. Genetic effects for plasma factor VII levels independent of and in common with triglycerides. *Thromb Haemost* 1999;**81**:382-6.
[64] van 't Hooft FM, Silveira A, Tornvall P, Iliadou A, Ehrenborg E, Eriksson P, et al. Two common functional polymorphisms in the promoter region of coagulation factor VII gene determining plasma factor VII activity and mass concentration. *Blood* 1999;**93**:3432-41.
[65] Folsom AR, Cushman M. Heckbert Sr, Ohira T, Rasmussen-Torvik L, Tsai MY. Factor VII coagulant activity, factor VII -670A/C and -402G/A polymorphisms, and risk of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost* 2007;**5**:1674-8.
[66] Ichinose A, Izumi T, Hashiguchi T. The normal and abnormal genes of the α and β subunits in coagulation factor XIII. *Semin Thromb Haemost* 1996;**22**:385-91.
[67] Lim BC, Ariëns RA, Carter AM, Weisel JW, Grant PJ. Genetic regulation of fibrin structure and function: complex gene-environment interactions may modulate vascular risk. *Lancet* 2003;**361**:1424-31.
[68] Wells PS, Anderson JL, Scarvelis DK, Doucette SP, Gagnon F. Factor XIII Val34Leu variant is protective against venous thromboembolism: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2006;**164**:101-9.
[69] Komanasin N, Catto AJ, Futers TS, Van Hylcama Vlieg A, Rosendaal FR, et al. A novel polymorphism in the factor XIII B-subunit (His 95 Arg): relationship to subunit dissociation and venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2005;**3**:2487-96.
[70] Medina P, Navarro S, Estelles A, Espana F. Polymorphisms in the endothelial protein C receptor gene and thrombophilia. *Thromb Haemost* 2007;**98**:564-9.
[71] Medina P, Navarro S, Corral J, Zorio E, Roidan V, Estelles A, et al. RECAVA Thrombosis group. *Haematologica* 2008;**93**:1358-63.
[72] Heit JA, Petterson TM, Owen WG, Burke JP, De Andrade M, Melton LJ. Thrombomodulin gene polymorphisms or haplotypes as potential risk factors for venous thromboembolism: a population-based case-control study. *J Thromb Haemost* 2005;**3**:710-7.
[73] Li YH, Chen JH, Wu HL, Shi GY, Huang HC, Chao TH, et al. G-33A mutation in the promoter region of thrombomodulin gene and its association with coronary artery disease and plasma soluble thrombomodulin levels. *Am J Cardiol* 2000;**85**:8-12.
[74] Juhan-Vague I, Alessi MC. PAI1, obesity, insulin resistance and the risk of cardiovascular events. *Thromb Haemost* 1997;**78**:656-60.
[75] Klinger KW, Winqvist R, Riccio A, Andreasen PA, Sartorio R, Nielsen LS, et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 gene is located at a region q21.3-q22 of chromosome 7 and genetically linked with cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;**84**:8548-50.
[76] Zee RY, Cook NR, Cheng S, Erlich HA, Lindpaintner K, Ridker PM. Multi-locus candidate gene polymorphisms and risk of myocardial infarction: a population-based prospective genetic analysis. *J Thromb Haemost* 2006;**4**:341-8.
[77] Ny T, Elgh F, Lund B. The structure of the human tissue type plasminogen activator gene: correlation of intron and exon structures to functional and structural domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;**81**: 5355-9.
[78] Ridker PM, Baker MT, Hennekens CH, Stampfer MJ, Vaughan DE. Alu-repeat polymorphism in the gene coding for tissue-type plasminogen activator (t-PA) and risks of myocardial infarction among middle-age men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;**17**:1687-90.
[79] Landevall P, Johansson L, Johannson JH, Jern S, Nillson TK, Tjarnlund A, et al. Tissue-type plasminogen activator -7351 C>T enhancer polymorphism is associated with a first myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2002;**87**:105-9.

[80] Kathiresan S, Yang Q, Larson MG, Camargo AL, Tofler GH, Hirschhorn JN, et al. Common genetic variation on five thrombosis genes and relation to plasma hemostatic protein level and cardiovascular disease risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;**26**:1405-12.

[81] Leurs J, Hendriks D. Carboxypeptidase U 'TAFIa': a metallocarboxypeptidase with a distinct role in haemostasis and a possible risk factor for thrombotic disease. *Thromb Haemost* 2005;**94**:471-87.

[82] Martini CH, Brandts A, Bruijne EL, Van Hylckama Vlieg A, Leebeek FW, Lisman T, et al. The effect of genetic variants in the thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) gene on TAFI-antigen levels, clot lysis time and the risk of venous thrombosis. *Br J Haematol* 2006;**134**:92-4.

[83] Zee RY, Hegener HH, Ridker PM. Carboxypeptidase B2 gene polymorphisms and the risk of venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2005;**3**:2819-21.

[84] Peerschke EI, Lopez JA. Platelet membranes and receptors. In: Loscalzo J, Schafer AI, editors. *Thrombosis and hemorrhage*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1998. p. 229-44.

[85] Bray PF. Integrin polymorphisms as risk factors for thrombosis. *Thromb Haemost* 1999;**82**:337-44.

[86] Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schlman SP, Kickler TS, Becker LC, et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 1996;**334**:1090-4.

[87] Herrmann SM, Poirier O, Marques-Vidal P, Evans A, Arveiler D, Luc G, et al. The Leu33Pro polymorphism (PlA1/PlA2) of the glycoprotein IIIa (GPIIIa) receptor is not related to myocardial infarction in the ECTIM study. *Thromb Haemost* 1997;**77**:1179-81.

[88] Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, Stampfer MJ, Lindpaintner K. PlA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke and venous thrombosis. *Lancet* 1997;**349**:385-9.

[89] Carter AM, Ossel-Gerning N, Grant PJ. Platelet glycoprotein IIIa PlA polymorphism in young men with myocardial infarction. *Lancet* 1996;**348**:485.

[90] Ardissino D, Mannucci PM, Merlini PA, Duca F, Fetiveau R, Tagliabue L, et al. Prothrombotic genetic risk factors in young survivors of myocardial infarction. *Blood* 1999;**94**:46-51.

[91] Gonzalez-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, Corral J, Iniesta JA, Moraleda JM, et al. Polymorphisms of platelet membrane glycoprotein Iba associated with arterial thrombotic disease. *Blood* 1998;**82**:2771-6.

[92] Maguire JM, Thakkinstian A, Stum J, Levi C, Lincz L, Parsons M, et al. Polymorphisms in platelet glycoprotein 1b alpha and factor VII and risk of ischemic stroke: a meta analysis. *Stroke* 2008;**39**:1710-6.

[93] Carlsson LE, Santoso S, Spitzer C, Kessler C, Greinacher A. The α2 gene coding sequence T807/A873 of the platelet collagene receptor integrin α2β1 might be a genetic risk factor for the development of stroke in younger patients. *Blood* 1999;**93**:3583-6.

[94] Moshfegh K, Wuillemin WA, Redondo M, Lämmle B, Beer JH, Liechti-Gallati S, et al. Association of two silent polymorphisms of platelet glycoprotein Ia/IIa with risk of myocardial infarction: a case control study. *Lancet* 1999;**353**:351-4.

[95] Roest M, Banga JD, Grobbee D, De Groot PG, Sixma JJ, Tempelman MJ, et al. Homozygosity for 807T polymorphism in α2 subunit of platelet α2β1 is associated with increased risk of cardiovascular mortality in high-risk women. *Circulation* 2000;**102**:1645-50.

[96] Bezemer ID, Bare LA, Doggen CJ, Arellano AR, Tong C, Rowland CM, et al. Gene variants associated with deep vein thrombosis. *JAMA* 2008;**299**:1306-14.

[97] Hetherington SL, Singh RK, Lodwick D, Thompson JR, Goodall A, Samani NJ. Dimorphism on the P2Y1 ADP receptor gene is associated with increased platelet activation response to ADP. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;**25**:252-7.

[98] Blangero J, Williams JT, Almasy L. Novel family-based approaches to genetic risk in thrombosis. *J Thromb Haemost* 2003;**1**:1391-7.

[99] Reitsma PH, Rosendaal FR. Past and future of genetic research in thrombosis. *J Thromb Haemost* 2007;**5**(suppl1):264-9.

M. Alhenc-Gelas, Biologiste des Hôpitaux (martine.alhenc-gelas@egp.aphp.fr).
Service d'hématologie biologique, Assistance publique - Hôpitaux de Paris, Hôpital européen Georges Pompidou, 20, rue Leblanc, 75908 Paris cedex 15, France.

Toute référence à cet article doit porter la mention : Alhenc-Gelas M. Mutations et polymorphismes des protéines de l'hémostase prédisposant à la thrombose. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Cardiologie, 11-001-G-20, 2011.

Cet article comporte également le contenu multimédia suivant, accessible en ligne sur em-consulte.com et em-premium.com :

1 autoévaluation

Cliquez ici